Trinity Biotech

TriniCLOT™ Fibrinogen Kit

REF T1301

TriniCLOT™ Fibrinogen

REF T1302 10 x 6 ml

TriniCAL™ Fibrinogen

REF T5104 10 x 1 ml

INTENDED USE

TriniCLOT Fibrinogen Kit is intended for quantitative determination of fibrinogen in plasma.

SUMMARY AND PRINCIPLE

Fibrinogen is the plasma protein precursor of fibrin, which when cross-linked, becomes the principal component of the fibrin clot. Thrombin cleaves fibrinogen to form a fibrin monomer. Fibrin monomers aggregate to form the insoluble fibrin polymers. Fibrinogen can be deficient in such conditions as congenital afibrinogenemia, hypofibrinogenemia and in some cases of dysfibrinogenemia. It can also be depressed in a number of disease states such as disseminated intravascular coagulation, systemic fibrinolysis, pancreatitis and severe hepatic dysfunction. Fibrinogen is an acute phase reactant protein whose concentration increases in response to many different physiological stimuli. It can be increased as a response to inflammatory states, with infections, during pregnancy and after trauma. It is elevated among smokers.[1,2] High fibrinogen levels in plasma have been associated with prethrombotic states. Fibrinogen levels have also been positively correlated to development of atherosclerotic cardiovascular disease and with the occurrence of myocardial infarction and stroke.[3,4] Because of the increased importance of the assessing fibrinogen levels, a reliable, sensitive procedure is necessary.

Most methods for determining fibrinogen concentration rely on the assumption that thrombin will quantitatively convert fibrinogen to fibrin. Estimation of concentration based on the weight or protein content of the formed fibrin clot may be subject to large errors due to the presence of inhibitors which cause little or no clot to form. Plasmin can also produce significant lysis of the formed clot before the final fibrinogen determination can be completed. Alternate procedures based on ammonium sulfate precipitation have been described[5,6] but do not correlate with thrombin clotting times when fibrinogen levels are below 100 mg/dl (1.0 g/L).[7]

The determination of biologic activity (i.e. clottability) is more useful in diagnosis than is the quantity of circulating fibrinogen. The method of Clauss[8] measures the rate of fibrinogen to fibrin conversion in the presence of excess thrombin and has been shown to be rapid, sensitive and precise.[9,10] The procedure described here is based on the Clauss method.

When diluted plasma is clotted with excess thrombin, the fibrinogen level is inversely proportional to the clotting time, yielding a curvilinear relationship when plotted on log-log paper. A calibration curve prepared from a fibrinogen reference is used to determine the fibrinogen concentration in the test sample.

REAGENT

For *in vitro* diagnostic use.

REAGENT DESCRIPTION

TriniCAL Fibrinogen, 2 x 1 ml, catalogue no. T5104A
Lyophilized citrated human plasma containing buffer and preservative. Fibrinogen value listed on the label is determined by the Clauss method and is traceable to the ISTH Secondary Coagulation Standard.
TriniCLOT Fibrinogen, 6ml, reagent, 3 x 6 ml, catalogue no. T1302A
Lyophilized preparation containing bovine thrombin, approximately 75 NIH U/ml, buffer, stabilizers and preservative.
TriniCLOT Imidazole Buffer, 2 x 20 ml, catalogue no. T1901A
Imidazole, 30 mmol/L, and sodium chloride, 125 mmol/L. Sodium azide, 0.1% added as preservative. pH 7.35.

REAGENT PREPARATION

Reconstitute **TriniCAL Fibrinogen** with 1.0 ml distilled or deionized water. Restopper vial and allow to stand until dissolution is complete. Invert gently to mix. DO NOT SHAKE.

Reconstitute Thrombin Reagent with 6.0 ml distilled or deionized water. Restopper vial and allow to stand until dissolution is complete. Invert periodically. DO NOT SHAKE.

Imidazole Buffer is provided as a liquid and requires no preparation prior to use.

NOTES:
1. Do not use distilled water containing preservatives.
2. If Thrombin Reagent is removed from original vial during testing or refrigerated storage, place in polypropylene or siliconized glass containers only.

ADDITIONAL MATERIALS REQUIRED
Control material
Coagulation Analyzer

MATERIALS AVAILABLE
TriniCHECK Control I or TriniCHECK Level I
TriniCHECK Fibrinogen Low Control
Coagulation Analyzer

INSTRUMENTS
Applications/Method Adaptations for individual analyzers are available upon request, please contact your local representative.

STORAGE AND STABILITY

Store Fibrinogen kit reagents in refrigerator (2–8°C). Reagent labels bear expiration dates. Reconstituted **TriniCAL Fibrinogen** is stable for 24 hours when stored at 2–8°C. Reconstituted Thrombin Reagent is stable for 12 days at 2–8°C or for 3 days at room temperature (18–26°C).

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

8. Dispense 0.05 ml (50 µl) of Thrombin Reagent into each cuvette.
9. Record clotting time results in seconds.
10. Extrapolate concentration from calibration curve.

BBL FIBROMETER METHOD:
Calibration Curve and Test Patient Plasma:
1. Reconstitute Thrombin Reagent and maintain at room temperature (18–26°C) during testing.
2. To Fibrometer cup add 0.2 ml (200 µl) of the diluted plasma sample.
3. Incubate for 1–3 minutes at 37°C. (Not longer than 5 minutes.)
4. Following incubation, rapidly expel 0.1 ml (100 µl) of Thrombin Reagent into the Fibrometer cup while simultaneously starting timer.
5. Record clotting time results in seconds.
6. Extrapolate concentration from calibration curve.

Probes must be washed and wiped dry between tests to prevent carry-over of activated plasma proteins. For effective cleaning, the Fibrometer probes should be immersed in water and wiped FIRMLY after each determination. Blotting dry is not sufficient.

QUALITY CONTROL
Reliability of test results should be monitored by use of normal and abnormal control materials within each run. TriniCHECK Control 1 or TriniCHECK Level 1 and TriniCHECK Fibrinogen Low Control, are suitable for this purpose. A control range should be established by the laboratory to determine the allowable variation in day to day performance for each level of control. **Trinity Biotech** Reliant C program may also be used to monitor assay performance. Control results falling outside the upper or lower limits of the established ranges indicate the assay may be out of control. Failure to meet Quality Control specifications should be investigated and resolved. If the problems cannot be resolved, contact **Trinity Biotech** Technical Services.

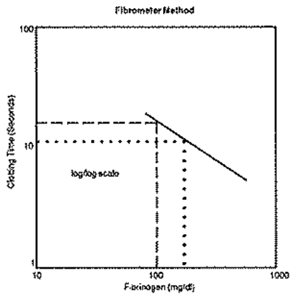
RESULTS

Use the calibration curve to read the Fibrinogen test values as follows:
Determine the point at which the clotting time for the 1:10 dilution of test plasma dilution (y-axis) intercepts the calibration curve. Read the corresponding Fibrinogen value in mg/dl (x-axis).

If the clotting time of the 1:10 dilution of test plasma exceeds the clotting time of the last dilution point on the calibration curve, make a 1:5 dilution of test plasma and repeat the assay. The resulting Fibrinogen concentration in mg/dl should be multiplied by the dilution factor of 0.5 to obtain the correct Fibrinogen concentration in mg/dl for the test sample. If the clotting time of the 1:10 dilution of test plasma is shorter than the clotting time of the last dilution point on the calibration curve, make a 1:20 dilution of test plasma and repeat the assay. The resulting Fibrinogen concentration in mg/dl should be multiplied by the dilution factor of 2 to obtain the correct Fibrinogen concentration in mg/dl for the test sample. If other dilutions are tested, the value obtained should be multiplied by the appropriate dilution factor.

A typical standard curve using the Fibrometer is shown in Figure 1. A 1:10 dilution of test plasma gave a clotting time of 12.2 seconds. The Fibrinogen concentration read from the calibration curve is 200 mg/dl (2.0 g/L), as shown by the dotted lines. A 1:20 dilution of the same plasma gives a 21.0 second clotting time (Figure 1). The Fibrinogen concentration read from the curve is 100 mg/dl (1.0 g/L). This value is multiplied by the dilution factor of 2, giving a Fibrinogen value of 200 mg/dl (2.0 g/L).

Figure 1



NOTE: The typical calibration curve depicted above cannot be used to derive laboratory results. Each laboratory must prepare a calibration curve.

INTERPRETATION OF RESULTS
The lowest recommended test dilution is 1:3. Undiluted plasma cannot be used because interfering substances and inhibitors may affect the accuracy of results.

The shortest measurement time for KC 1/KC 4 instrumentation is approximately 4.5 seconds. When a clotting time of 4.5 seconds is obtained, rerun the sample with a different dilution.

Results are not significantly affected by usual therapeutic levels of heparin (up to 3.0 USP U/ml) as found in anticoagulated patients. It has been reported that fibrin degradation products (FDP) may inhibit the thrombin action on fibrinogen and fibrin polymerization. FDP has minimal effect on the fibrinogen assay at normal fibrinogen levels. At fibrinogen concentrations below 150 mg/dl (1.5 g/L), FDP at concentrations greater than 100 µg/ml may increasingly inhibit the Clauss assay.[1]

EXPECTED RESULTS
The normal range for fibrinogen level in human plasma is generally considered to be 175–400 mg/dl (1.75–4.00 g/L).[12] However, due to procedural variations among laboratories, each laboratory should establish its own mean and normal range (mean ± 2 SD).

The following conditions have been associated with low fibrinogen levels:
hepatic disease, traumatic and infectious acute consumptive coagulopathy fibrinolysis, acute pulmonary embolism, hereditary dysfibrinogenemia and certain poisonous snake bites.

Fibrinogen values are increased in conditions involving extensive tissue necrosis, as in active malignancies or during aggressive chemotherapy and with severe inflammatory responses. Elevated fibrinogen levels may be present in renal disease when other coagulation factors are severely depressed.[13]

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

LIMITS OF MEASUREMENT:
Fibrinogen concentrations in the range of 100–500 mg/dl (1.0–5.0 g/L) can be directly detected with this procedure. If plasma samples are rediluted, fibrinogen concentrations of 50–1000 mg/dl (0.5–10.0 g/L) can be detected.

CORRELATION STUDIES:
The described procedure was found to correlate well with another commercially available product based on the Clauss method. One hundred and two samples having fibrinogen

TriniCLOT Imidazole Buffer, 2 x 20 ml, catalogue no. T1901A
Imidazole, 30 mmol/L et chlorure de sodium, 125 mmol/L. Conservateur: azide de sodium, 0,1%. pH: 7,35.

PRÉPARATION DU RÉACTIF
Reconstituer le **TriniCAL Fibrinogen** avec 1,0 ml d'eau distillée ou déionisée. Reboucher le flacon et laisser reposer jusqu'à complète dissolution. Mélanger doucement en inversant le flacon. NE PAS SECOUER.

Reconstituer le réactif Thrombine avec 6,0 ml d'eau distillée ou déionisée. Reboucher le flacon et laisser reposer jusqu'à complète dissolution. Mélanger en inversant le flacon par intermittences. NE PAS SECOUER.
Le tampon imidazole liquide est prêt à l'emploi.

REMARQUES:
1. Ne pas utiliser une eau distillée contenant des conservateurs.
2. Au cours des dosages ou lors de la conservation au froid, utiliser uniquement des récipients en polypropylène ou en verre siliconé pour transvaser le réactif Thrombine dans un autre flacon que celui d'origine.

AUTRES MATÉRIELS NÉCESSAIRES
Matériel de contrôle
Analyseur de coagulation

MATERIELS FOURNIS
TriniCHECK Control I ou TriniCHECK Level I
TriniCHECK Fibrinogen Low Control
Analyseur de coagulation

INSTRUMENTS
Les applications/adaptations de la méthode pour chaque analyseur sont disponibles sur demande. Veuillez contacter votre représentant local.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Les réactifs de la trousse fibrinogène se conservent au froid (entre 2 et 8°C) jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette des flacons. Le **TriniCAL Fibrinogen** reconstitué est stable pendant 24 heures conservé au froid (entre 2 et 8°C). Le réactif Thrombine reconstitué est stable 12 jours conservé au froid (entre 2 et 8°C) ou 3 jours à température ambiante (entre 18 et 26°C).

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Il est recommandé d'effectuer les prélèvements conformément aux directives CLSI H21-A5.[11] Aucune méthode actuelle n'offre la garantie totale que les échantillons de sang ne contiennent pas agent infectieux. Par conséquent, tous les dérivés du sang doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Le sang veineux prélevé est recueilli dans des tubes contenant du citrate de sodium à 3,2% (0.109 M) avec un rapport anticoagulant/sang de 1 volume d'anticoagulant pour 9 volumes de sang (rapport 1:10). Le rapport est d'importance primordiale. Le citrate de sodium à 3.2% est recommandé par le CLSI et l'OMS. Un remplissage complet doit être effectué lors de l'utilisation de tubes à prélèvement sous vide vendus dans le commerce. Éviter les traumatismes et les stases lors du prélèvement. Ne pas prélever le sang par l'intermédiaire d'un régulateur de débit d'héparine ou d'un autre dispositif hépariné. La présence de caillots dans un échantillon fera l'objet d'un rejet. Mélanger soigneusement le contenu du tube en le retournant lentement après le prélèvement. Pour obtenir un échantillon de plasma, centrifuger à 1500 x g pendant au moins 15 minutes.

À moins d'utiliser les échantillons immédiatement, transférer le plasma dans un tube à essai en plastique. Conserver les échantillons dans le réfrigérateur (entre 2 et 8°C) ou à température ambiante (entre 18 et 25°C), et effectuer le test dans les 4 heures. Si le test n'est pas réalisé dans les 4 heures, congeler l'échantillon à -70°C pour une durée maximale de 6 mois. Les échantillons de plasma congelés doivent être décongelés rapidement à 37°C tout en étant mélangés avec précaution, et le test doit être effectué immédiatement. Si le test ne peut pas être réalisé immédiatement après décongélation, l'échantillon peut être conservé à 4°C pendant 2 heures maximum avant d'être testé. Le TCA peut être faussé dans certains échantillons qui ont été congelés.

PROCÉDURE

DOSAGE DE L'ECHANTILLON A ANALYSER
Les échantillons de plasma à doser sont dilués au 1:10 dans du tampon d'imidazole dans des tubes en plastique. Conserver les dilutions entre 2 et 8°C.

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS
Les précautions habituelles préconisées lors de la manipulation des réactifs de laboratoire doivent être respectées. Eliminer les déchets selon les lois en vigueur.

Le **TriniCAL Fibrinogen** PEUT PRÉSENTER UN RISQUE BIOLOGIQUE. La source originelle de ce produit s'est avérée négative vis à vis de l'antigène de surface de l'hépatite B et des anticorps spécifiques du virus de l'hépatite C et des virus VIH-1 et VIH-2 par des méthodes reconnues. Cependant, puisque aucune méthode ne peut garantir l'absence totale d'agents infectieux, ce produit doit être manipulé en observant les mêmes règles de sécurité que celles habituellement suivies pour d'autres agents potentiellement infectieux.

Le réactif Thrombine est NOCIF par contact avec la peau et en cas d'ingestion. Irritant pour les yeux, l'appareil respiratoire et la peau. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment à l'eau; consulter un médecin. Porter un vêtement de protection approprié.

L'absence de vide à l'ouverture du flacon de **TriniCAL Fibrinogen** ou du flacon de Thrombine, ou l'impossibilité d'obtenir des valeurs reproductibles sont des signes d'altération possible du produit.

Le tampon d'imidazole contient de l'azide de sodium qui est NOCIF par contact avec la peau et en cas d'ingestion. Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique. PEUT PRÉSENTER UN RISQUE BIOLOGIQUE. Conserver le récipient bien fermé. Porter des vêtements protecteurs et des gants appropriés. L'azide de sodium peut réagir avec les canalisations en plomb ou en cuivre et former des azides métalliques très explosifs. Éviter l'accumulation d'azide. Ne pas utiliser le tampon d'imidazole s'il présente des signes de contamination bactérienne.

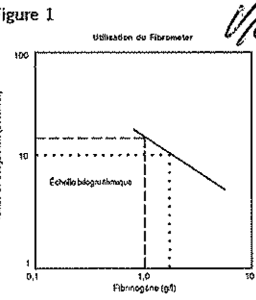
PROTOCOLE DE DOSAGE
La trousse Fibrinogène peut être utilisée avec des systèmes de détection mécaniques et photo-optiques. Se référer au manuel d'utilisation de l'appareil ou aux applications spécifiques pour les instructions d'emploi et les limites de la méthode.

Pour une meilleure précision, réaliser tous les tests en double en ayant soin de reproduire les mêmes conditions : technique, durée, température, incubation.

Si le KC 1™, le KC 4™ ou le Fibrometer® sont utilisés, préparer les dilutions du fibrinogène TriniCAL avec le tampon imidazole et conserver ces dilutions au froid (entre 2 et 8°C). N'utiliser que des tubes en plastique. Agiter doucement les tubes.

Yura Lux 30 OCT 08
Damien ... 30 OCT 08

Figure 1



REMARQUE: cette courbe d'étalonnage type ne saurait servir de courbe universellement valable. Chaque laboratoire doit établir sa propre courbe d'étalonnage.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS
La plus faible dilution de plasma recommandée est de 1:3. Les plasmas purs ne peuvent être utilisés; en effet la présence de concentrations importantes d'inhibiteurs et de substances interférentes peut influer sur l'exactitude des résultats.

Le temps de mesure le plus court pour les analyseurs KC 1/KC 4 est d'environ 4,5 secondes. Si un temps de coagulation de 4,5 secondes est obtenu, retester l'échantillon en utilisant une autre dilution.

Les résultats des patients sous héparine (jusqu'à 3,0 USP/ml) ne sont pas affectés. Les produits de dégradation de la fibrine (PDF) peuvent inhiber l'action de la thrombine sur le fibrinogène et la polymérisation de la fibrine. Les PDF interfèrent peu sur le dosage du fibrinogène lorsque les concentrations en fibrinogène sont normales. Pour un taux de fibrinogène inférieur à 150 ml/dl (1,5 µg/L), des PDF supérieurs à 100 µg/ml peuvent considérablement inhiber le test de Clauss[1] et donner des taux de fibrinogène anormalement bas.

RESULTATS ATTENDUS
La concentration de fibrinogène d'un plasma humain normal est généralement comprise entre 175-400 mg/dl (1,75-4 g/L).[12] Cependant, compte tenu des différences de protocoles d'un laboratoire à l'autre, chaque laboratoire doit établir son propre intervalle de valeurs normales (moyenne ± 2 écart-types).

Les pathologies suivantes peuvent être associées à un taux de fibrinogène bas:
les atteintes hépatiques, d'origine infectieuse ou traumatique, la coagulopathie aiguë de consommation, la fibrinolyse, l'embolie pulmonaire aiguë, la dysfibrinogénémie héréditaire, l'effet de la morsure de certains serpents venimeux.

Les taux de fibrinogène sont augmentés dans les pathologies où une nécrose tissulaire massive est observée, comme dans le cas des cancers évolutifs ou lors d'une chimiothérapie agressive qui entraîne des états inflammatoires sévères. Des augmentations du fibrinogène peuvent être retrouvées dans les néphropathies lorsque d'autres facteurs de la coagulation sont effondrés.[13]

PERFORMANCES DU TEST

LIMITES DE LA MESURE:
Cette méthode permet le dosage du fibrinogène compris entre 100 et 500 mg/dl (1,0 et 5,0 g/L). Lorsque le plasma est redilué, le domaine de mesure du fibrinogène s'étend de 50 à 1000 mg/dl (0,5 à 10,0 g/L).

ÉTUDE DE CORRÉLATION:
La méthode décrite présente une bonne corrélation avec les autres techniques disponibles dans le commerce utilisant le principe de Clauss. 102 échantillons, dont le fibrinogène était compris entre 95 et 764 mg/dl (0,95 et 7,64 g/L), ont été dosés sur le Fibrometer avec le réactif fibrinogène Trinity Biotech (y) et un autre réactif du commerce (x). L'étude de corrélation donne un coefficient de corrélation de 0,96 et une droite de régression y = 0,91x + 0,283.

PRÉCISION DANS LE TEMPS:
La précision dans le temps a été déterminée sur le Fibrometer selon le protocole CLSI EP5-T2[14] en utilisant 3 taux plasmatiques de fibrinogène.

Les résultats suivant ont été obtenus (n = 40) :

	Niveau fibrinogène	Faible	Moyen	Elevé
	moyenne, mg/dl	166,4	267,2	497,1
Intra-séries	ET	6,8	10,0	22,5
	CV(%)	4,1	3,7	4,5
Total	ET	6,7	10,7	29,8
	CV(%)	4,0	4,0	6,0

Trinity Biotech

TriniCLOT™ Fibrinogen Kit

REF T1301

TriniCLOT™ Fibrinogen Kit

REF T1302 10 x 6 ml

TriniCAL™ Fibrinogen

REF T5104 10 x 1 ml

DEUTSCH

VERWENDUNGSZWECK

Das **TriniCLOT Fibrinogen** Testkit ist zur quantitativen Bestimmung von Fibrinogen im Plasma vorgesehen.

STORAGE AND STABILITY

Store Fibrinogen kit reagents in refrigerator (2–8°C). Reagent labels bear expiration dates. Reconstituted **TriniCAL Fibrinogen** is stable for 24 hours when stored at 2–8°C. Reconstituted Thrombin Reagent is stable for 12 days at 2–8°C or for 3 days at room temperature (18–26°C).

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

It is recommended that specimen collection and storage be carried out in accordance with CLSI document H21-A5.[11] No known test method can offer complete assurance that human blood samples will not transmit infection. Therefore, all blood derivatives should be considered potentially infectious. Venous blood is collected in 3.2% sodium citrate at a ratio of 9 parts blood to 1 part anticoagulant (1:10 ratio). The ratio is critical. 3.2% sodium citrate is recommended by CLSI and WHO. If using commercial vacuum tubes, a full draw must be assured. Trauma or stasis during drawing should be avoided. Blood should not be collected through a heparin lock or other heparinized line. The presence of clot in a specimen is cause for rejection. Mix tube well by gentle inversion against stopper after collection. To obtain a plasma sample centrifuge at 1500 x g for a minimum of 15 minutes.

Unless samples are to be processed immediately, transfer plasma to a plastic tube. Store plasma samples refrigerated (2–8°C) or room temperature (18–25°C) and test within 4 hours. If testing is not completed within 4 hours, freeze sample at –70°C for up to six months. Frozen plasmas samples should be rapidly thawed at 37°C while gently mixing, and tested immediately. If the testing cannot be performed immediately, the specimen may be held for a maximum of 2 hours at 4°C until tested. The APTT may be affected on some samples which have been frozen.

PROCEDURE

PATIENT ASSAY:
Patient test plasmas are prepared by diluting plasma 1:10 with Imidazole Buffer in plastic tubes. Store dilutions at 2–8°C.

WARNINGS AND PRECAUTIONS
Normal precautions exercised in the handling of laboratory reagents should be followed. Dispose of waste observing all local, state and federal laws.

TriniCAL Fibrinogen is a POTENTIALLY BIOHAZARDOUS MATERIAL. Source materials from which this product was derived were found negative for HBsAg and for antibodies against HCV, HIV-1 and HIV-2 by approved test methods. However, since no test method can offer complete assurance that infectious agents are absent, this product should be handled observing the same safety precautions employed when handling any potentially infectious material.

Thrombin Reagent is HARMFUL. Harmful in contact with skin and if swallowed. Irritating to eyes, respiratory system and skin. In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice. Wear suitable protective clothing.

Lack of vacuum upon opening **TriniCAL Fibrinogen** or Thrombin Reagent vials or inability to obtain reproducible values are potential signs of product deterioration.

Imidazole Buffer contains sodium azide which is HARMFUL. Harmful in contact with skin and if swallowed. Contact with acids liberates very toxic gas. Keep container tightly closed. Wear suitable protective clothing and gloves. POTENTIALLY BIOHAZARDOUS MATERIAL. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. Avoid azide accumulation. Discard Imidazole Buffer if there is evidence of microbial growth.

TEST PROCEDURE
The Fibrinogen Kit may be used with mechanical and photo-optical techniques. Refer to instrument operation manual or specific instrument application for instructions and limitations of procedure.

Perform all testing in duplicate taking care to reproduce timing, temperature, incubation, and technique for greatest precision.

When using the KC 1™, KC 4™ or Fibrometer®, prepare dilutions of **TriniCAL Fibrinogen** with Imidazole Buffer and store dilutions refrigerated (2–8°C). Use plastic tubes throughout. Mix tubes gently.

Examples of dilutions are given below:

Dilution	TriniCAL Fibrinogen (ml)	Imidazole Buffer (ml)	Dilution Factor
1:5	0.5	2.0	2
1:10	0.5 of 1:5 dilution	0.5	1
1:15	0.4 of 1:5 dilution	0.8	0.66
1:20	0.2 of 1:5 dilution	0.9	0.5
1:25	0.2 of 1:5 dilution	0.8	0.4
1:30	0.2 of 1:5 dilution	1.0	0.33

The 1:10 dilution of the **TriniCAL Fibrinogen** defines the assay value listed on the vial label and is the dilution to which all other dilutions are related. The dilution factor indicates the relationship between the 1:10 dilution and all other dilutions.

The values of all other dilutions are calculated as follows:
Assayed Value of **TriniCAL Fibrinogen** (mg/dl) x Dilution Factor = Fibrinogen, mg/dl

Fibrinogen calibration curve results are plotted on furnished graph paper or on 2-cycle log x log graph paper with fibrinogen concentration (mg/dl) on the x-axis and clotting time (seconds) on the y-axis. The curve connecting the points is usually curvilinear.

KC 4 METHOD:
Calibration Curve and Test Patient Plasma:
1. Reconstitute Thrombin Reagent and warm to room temperature (18–26°C).
2. Place cuvettes into rack positioned in the unheated preparation area.
3. Dispense one ball into each cuvette.
4. Pipette 0.1 ml (100 µl) of sample dilution into each cuvette.
5. Close flap, remove rack from preparation area and swirl gently 4–5 times. Transfer rack into heated incubation area or into the rotating test positions.
6. Incubate for 1–3 minutes.
7. Place rack into rotating test positions. Open flap.

LIMITS OF MEASUREMENT:
Fibrinogen concentrations in the range of 100–500 mg/dl (1.0–5.0 g/L) can be directly detected with this procedure. If plasma samples are rediluted, fibrinogen concentrations of 50–1000 mg/dl (0.5–10.0 g/L) can be detected.

CORRELATION STUDIES:
The described procedure was found to correlate well with another commercially available product based on the Clauss method. One hundred and two samples having fibrinogen concentrations ranging from 95 to 764 mg/dl (0.95–7.64 g/L) were assayed with the described reagent (y) and with an established reagent (x) on the Fibrometer. Comparison of the results yielded a correlation coefficient of 0.96 and a regression equation of $y = 0.91x + 28.3$.

PRECISION:
Precision was determined on the Fibrometer according to the CLSI publication EP5-T2[14] using plasma containing three levels of fibrinogen.

The following data were obtained (n = 40):

	Fibrinogen level	Low	Mid	High
	Mean, mg/dl	166.4	267.2	497.1
Within-Run	SD	6.8	10.0	22.5
	CV(%)	4.1	3.7	4.5
Total	SD	6.7	10.7	29.8
	CV(%)	4.0	4.0	6.0

Trinity Biotech

TriniCLOT™ Fibrinogen Kit

REF T1301

TriniCLOT™ Fibrinogen Kit

REF T1302 10 x 6 ml

TriniCAL™ Fibrinogen

REF T5104 10 x 1 ml

FRANÇAIS

UTILISATION

TriniCLOT Fibrinogen Kit est destiné à la détermination quantitative du fibrinogène plasmatique.

SOMMAIRE ET PRINCIPE

Le fibrinogène est le précurseur protéique plasmatique de la fibrine, qui polymérisé, devient le principal composant du caillot de fibrine. Sous l'action de la thrombine, le fibrinogène est clivé et forme un monomère de fibrine. Les monomères de fibrine sont polymérisés en un réseau de fibrine insoluble. Un taux de fibrinogène bas est retrouvé dans l'afibrinogénémie congénitale, dans l'hypofibrinogénémie et dans certains cas de dysfibrinogénémie, mais aussi dans différentes pathologies comme la coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), la fibrinolyse, la pancréatite et les insuffisances hépatiques sévères. Le fibrinogène est une protéine réactive de la phase aiguë dont la concentration augmente en réponse à différents stimuli physiologiques.

Il peut être augmenté au cours d'une inflammation, d'une infection, au cours de la grossesse et après un traumatisme. Le fibrinogène est augmenté chez les fumeurs.[1,2] Un taux plasmatique élevé de fibrinogène a été associé à des états préthrombotiques. La concentration en fibrinogène est corrélée positivement au développement de l'athérosclérose, de l'infarctus du myocarde et des accidents vasculaires cérébraux.[3,4] Devant l'intérêt croissant du fibrinogène en clinique, il est nécessaire de disposer d'une méthode de dosage fiable et sensible.

La plupart des méthodes de dosage du fibrinogène reposent sur l'hypothèse que la thrombine transforme quantitativement le fibrinogène en fibrine. La concentration estimée à partir du poids ou du contenu protéique du caillot de fibrine peut être soumise à des erreurs importantes dues à la présence d'inhibiteurs qui bloquent partiellement ou totalement la formation du caillot. La plasmine peut être aussi à l'origine d'une lyse importante du caillot formé avant que le dosage du fibrinogène ne soit achevé. D'autres méthodes basées sur la précipitation par le sulfate d'ammonium ont été décrites[5,6] mais elles ne sont pas corrélées avec le temps de thrombine lorsque le fibrinogène est inférieur à 100 mg/dl (1,0 g/L).[7]

La détermination de l'activité biologique (coagulabilité) est plus utile au diagnostic que le dosage pondéral du fibrinogène circulant. La méthode de Clauss[8] mesure la vitesse de conversion du fibrinogène en fibrine en présence d'un excès de thrombine. Elle est rapide, sensible et précise.[9,10] La procédure décrite ci-dessous applique la méthode de Clauss.

Lorsque le plasma dilué coagule en présence d'un excès de thrombine, la concentration en fibrinogène est inversement proportionnelle au temps de coagulation obtenu; la représentation graphique sur papier bilogarithmique fait apparaître une relation curvilinéaire. La concentration de fibrinogène du plasma testé est déterminée à partir d'une droite d'étalonnage établie à l'aide d'un fibrinogène de référence.

RÉACTIF

Pour usage diagnostic *in vitro*.

DESCRIPTION DU RÉACTIF
TriniCAL Fibrinogen, 2 x 1 ml, catalogue number T5104A
Plasma humain citraté lyophilisé contenant un tampon et un conservateur. La concentration de fibrinogène indiquée sur l'étiquette a été déterminée par la méthode de Clauss et renvoie à la norme de coagulation secondaire (ISTH Secondary Coagulation Standard).
TriniCLOT Fibrinogen 6 ml, reagent, 3 x 6 ml, catalogue no. T1302A
Préparation lyophilisée contenant de la thrombine bovine, environ 75 NIH U/ml, un tampon, des stabilisants et un conservateur.

Pour une meilleure précision, réaliser tous les tests en double en ayant soin de reproduire les mêmes conditions : technique, durée, température, incubation.

Si le KC 1™, le KC 4™ ou le Fibrometer® sont utilisés, préparer les dilutions du fibrinogène TriniCAL avec le tampon imidazole et conserver ces dilutions au froid (entre 2 et 8°C). N'utiliser que des tubes en plastique. Agiter doucement les tubes.

Des exemples de dilutions de fibrinogène de référence sont donnés ci-dessous:

Dilution	Fibrinogène TriniCAL (ml)	Tampon d'imidazole (ml)	Facteur de dilution
1:5	0,5	2,0	2
1:10	0,5 de la dilution 1:5	0,5	1
1:15	0,4 de la dilution 1:5	0,8	0,66
1:20	0,2 de la dilution 1:5	0,9	0,5
1:25	0,2 de la dilution 1:5	0,8	0,4
1:30	0,2 de la dilution 1:5	1,0	0,33

La dilution au 1:10 du **TriniCAL Fibrinogen** détermine la valeur dosée indiquée sur l'étiquette du flacon et représente la dilution à laquelle toutes les autres sont rapportées. Le facteur de dilution indique la relation entre la dilution au 1:10 et les autres dilutions.

La valeur de toutes les autres dilutions est calculée de la façon suivante:
Fibrinogène (g/L) = concentration du **TriniCAL Fibrinogen** (g/L) x facteur de dilution.

Reporter les résultats de la courbe d'étalonnage du fibrinogène sur le papier graphique fourni ou sur du papier logarithmique en notant en abscisse la concentration de fibrinogène (g/L) et en ordonnée le temps de coagulation (secondes). La courbe obtenue est curvilinéaire.

MÉTHODE KC 4:
Courbe d'étalonnage et dosage patient:
1. Reconstituer le réactif Thrombine et incuber à température ambiante (entre 18 et 26°C).
2. Placer les cuvettes dans un portoir positionné dans la zone de préparation non thermostatée.
3. Placer une bille dans chaque cuvette.
4. Introduire 0,1 ml (100 µl) d'échantillon dilué dans chaque cuvette.
5. Fermer le couvercle, enlever le portoir de la zone de préparation et agiter doucement par rotations 4 à 5 fois. Placer le portoir dans la zone d'incubation thermostatée ou dans la zone de rotation des puits.
6. Incuber entre 1 et 3 minutes.
7. Placer le portoir dans la zone de rotation des puits. Ouvrir le couvercle.
8. Introduire 0,05 ml (50 µl) de réactif Thrombine dans chaque cuvette.
9. Enregistrer les temps de coagulation en secondes.
10. Lire la valeur de fibrinogène correspondante sur la courbe d'étalonnage.

MÉTHODE FIBROMETER BBL:
Courbe d'étalonnage et dosage patient:
1. Reconstituer le réactif Thrombine et le maintenir à température ambiante (entre 18 et 26°C) pendant la réalisation du test.
2. Introduire 0,2 ml (200 µl) de plasma dilué dans la cupule du Fibrometer.
3. Incuber entre 1 et 3 minutes à 37°C (ne pas dépasser 5 minutes).
4. Après incubation, introduire rapidement 0,1 ml (100 µl) de réactif Thrombine dans la cupule du Fibrometer. Déclencher en même temps le chronomètre.
5. Noter les temps de coagulation en secondes.
6. Lire la valeur de fibrinogène correspondante sur la courbe d'étalonnage.

Les sondes doivent être lavées, essuyées et séchées entre chaque test afin d'éviter toute contamination par des protéines plasmatiques activées. Pour nettoyer efficacement les sondes du Fibrometer, les immerger dans de l'eau et essuyer ÉNERGIQUEMENT après chaque dosage. L'essuyage à sec n'est pas suffisant.

CONTRÔLE DE QUALITÉ:
La fiabilité des résultats des tests doit être vérifiée au moyen de matériels de contrôle normaux et anormaux pour chaque analyse. Le TriniCHECK Control I ou TriniCHECK Level I et le TriniCHECK Fibrinogen Low Control, peuvent être utilisés à cet effet. Le laboratoire doit établir une plage de contrôle pour chaque niveau de contrôle afin de déterminer la variation permise pour la performance au jour le jour. Le programme Reliant C de **Trinity Biotech** doit également être utilisé pour surveiller la performance des dosages. Les résultats de contrôles qui ne sont pas compris dans les limites supérieures et inférieures des plages définies indiquent que le dosage risque d'être hors de la plage de contrôle. Si les spécifications du contrôle de qualité ne peuvent être respectées, il est recommandé d'en rechercher la cause et de remédier au problème. S'il est impossible d'y remédier, contacter les services techniques de **Trinity Biotech**.

RÉSULTATS

Pour connaître les valeurs des dosages du fibrinogène, utiliser la courbe d'étalonnage de la façon suivante:
Déterminer le point d'intersection du temps de coagulation pour la dilution de l'échantillon au 1:10 (ordonnée) et de la courbe d'étalonnage. Lire la valeur de fibrinogène correspondante, en mg/dl (abscisse).

Si le temps de coagulation du plasma dilué au 1:10 est supérieur au temps de coagulation de la dernière dilution de la courbe d'étalonnage, faire une dilution de l'échantillon au 1:5 et recommencer le dosage. La teneur en fibrinogène trouvée, en mg/dl, doit alors être multipliée par le facteur de dilution 0,5 afin d'obtenir la teneur exacte en fibrinogène (mg/dl) de l'échantillon. Si le temps de coagulation de plasma diminué est inférieur au temps de coagulation de la dernière dilution de la courbe d'étalonnage, faire une dilution de l'échantillon au 1:20 et recommencer le dosage. La teneur en fibrinogène trouvée en mg/dl, doit alors être multipliée par le facteur de dilution de 2 afin d'obtenir la teneur exacte en fibrinogène (mg/dl) de l'échantillon. Si d'autres dilutions sont utilisées, la valeur obtenue doit être multipliée par le facteur de dilution approprié.

Une courbe d'étalonnage type réalisée avec le Fibrometer est présentée sur la figure 1. Une dilution de plasma au 1:10 indique un temps de coagulation de 12,2 secondes. La teneur en fibrinogène lue sur la courbe d'étalonnage est de 200 mg/dl (2,0 g/L) (lignes en pointillé). Une dilution au 1:20 du même plasma donne un temps de coagulation de 21,0 secondes (Figure 1). La teneur en fibrinogène lue sur la courbe est de 100 mg/dl (1,0 g/L). Cette valeur est multipliée par le facteur de dilution 2, ce qui donne un taux de fibrinogène de 200 mg/dl (2,0 g/L).

DEUTSCH

VERWENDUNGSZWECK

Das **TriniCLOT Fibrinogen** Testkit ist zur quantitativen Bestimmung von Fibrinogen im Plasma vorgesehen.

ZUSAMMENFASSUNG UND PRINZIP

Fibrinogen ist die Plasmaproteinvorstufe des Fibrins, die, wenn quervernetzt, zum Hauptbestandteil des Fibringerinnsels wird. Fibrinogen wird durch Thrombin gespalten, wodurch ein Fibrinmonomer gebildet wird. Fibrinmonomere aggregieren und bilden unlösliche Fibrinpolymere. Bei Krankheiten, wie kongenitale Afibrinogenämie, Hypofibrinogenämie und in manchen Fällen von Dysfibrinogenämie kann ein Fibrinogenmangel vorliegen. Auch bei Krankheitszuständen wie z.B. disseminierter intravasaler Koagulation, systemischer Fibrinolyse, Pankreatitis oder schwerer Funktionsstörung der Leber kann die Synthese von Fibrinogen gehemmt sein. Fibrinogen ist ein Akut-Phasen-Protein, das auf viele verschiedene physiologische Reize mit einer Konzentrationserhöhung reagiert. Dies geschieht z.B. als Reaktion auf Entzündungen bei Infektionen, im Verlauf einer Schwangerschaft und nach einem Trauma. Bei Rauchern ist der Fibrinogen-Wert erhöht.[1,2] Hohe Fibrinogenkonzentrationen im Plasma wurden im Zusammenhang mit präthrombotischen Stadien beobachtet. Erhöhte Fibrinogenwerte wurden außerdem eindeutig mit der Entwicklung von arteriosklerotischen Herzkreislauf-Erkrankungen und dem Auftreten von Myokardinfarkt und Schlaganfall in Verbindung gebracht.[3,4] Zuverlässige und sensitive Verfahren sind aufgrund der gestiegenen Bedeutung der Fibrinogenbestimmung erforderlich.

Die meisten Methoden für die Bestimmung der Fibrinogenkonzentration beruhen auf der Annahme, dass Fibrinogen von Thrombin quantitativ in Fibrin umgewandelt wird. Bei der Bestimmung der Fibrinogenkonzentration über das Gewicht des gebildeten Gerinnsels oder dessen Proteingehalt kann es zu stark fehlerbehafteten Ergebnissen kommen, da die Anwesenheit von Inhibitoren die Gerinnselbildung mehr oder weniger stark hemmen kann. Plasmin kann ebenfalls eine signifikante Lyse des gebildeten Gerinnsels bewirken, bevor die endgültige Fibrinogenbestimmung abgeschlossen werden kann. Andere Methoden, auf Basis einer Ammoniumsulfatfällung, wurden auch beschrieben.[5,6] Sie korrellieren jedoch insbesondere bei Fibrinogenkonzentrationen unterhalb von 100 mg/dl (1,0 g/L) nicht mit den Thrombin-Gerinnungszeiten.[7]

Die Bestimmung der biologischen Aktivität (d.h. der Fähigkeit zur Bildung eines Gerinnsels) ist für die Diagnose zweckmäßiger als die quantitative Bestimmung des zirkulierenden Fibrinogens. Die Methode nach Clauss[6] bestimmt in Anwesenheit eines Überschusses an Thrombin die Umwandlungsrate von Fibrinogen in Fibrin. Sie stellte sich als schnell, empfindlich und genau heraus.[9,10] Das hier beschriebene Testverfahren beruht auf der Bestimmung nach Clauss.

Wird verdünntes Plasma mit einem Überschuss an Thrombin zur Gerinnung gebracht, ist die Fibrinogenkonzentration umgekehrt proportional zur Gerinnungszeit. Bei Auftragung auf doppel-logarithmischem Papier erhält man eine schwach gekrümmte Eichkurve. Eine mit Fibrinogen-Referenzplasma ermittelte Eichkurve dient zur Bestimmung der Fibrinogenkonzentration in der Patientenprobe.

REAGENZ

Nur zur Verwendung in der *In Vitro*-Diagnostik

BESCHREIBUNG
TriniCAL Fibrinogen, 2 x 1 ml, catalogue no. T5104A
Lyophilisiertes, mit Citrat versetztes menschliches Plasma, enthält Puffer und Konservierungsstoffe. Der auf dem Etikett aufgeführte Fibrinogenwert wurde durch die Clauss-Methode bestimmt und ist auf den ISTH-Sekundär-Koagulations-Standard rückführbar.
TriniCLOT Fibrinogen 6 ml, Reagenz, 3 x 6 ml, catalogue no. T1302A
Lyophilisiertes Präparat, enthält Rinderthrombin, etwa 75 NIH-Einheiten/ml, Puffer, Stabilisatoren und Konservierungsstoffe.
TriniCLOT Imidazole Buffer, 2 x 20 ml, catalogue no. T1901A
Imidazol, 30 mmol/L, Natriumchlorid, 125 mmol/L. Enthält 0,1% Natriumazid als Konservierungsmittel. pH 7,35.

VORBEREITUNG:
TriniCAL Fibrinogen (Fibrinogen-Referenz) mit 1,0 ml destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Fläschchen wieder verschließen und bis zum vollständigen Auflösen stehen lassen. Zum Mischen behutsam kippen. NICHT SCHÜTTELN.

Thrombin-Reagenz mit 6,0 ml destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Fläschchen wieder verschließen und bis zum vollständigen Auflösen stehen lassen. Gelegentlich kippen. NICHT SCHÜTTELN.

Der Imidazol-Puffer ist eine gebrauchsfertige Flüssigkeit und kann direkt verwendet werden.

HINWEISE:
1. Kein destilliertes Wasser mit Konservierungsstoffen verwenden.
2. Das während des Tests oder nach Gefrierlagerung aus dem Originalfläschchen entnommene Thrombin-Reagenz nur in Polypropylen-Gefäßen oder silikonisierten Glasgefäßen aufbewahren.

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE MATERIALIEN
Kontrollmaterial
Koagulationsmessgerät

VERFÜGBARE MATERIALIEN
TriniCHECK Control I oder TriniCHECK Level I
TriniCHECK Fibrinogen Low Control
Koagulationsmessgerät

INSTRUMENTE
Anwendungs-/Verfahrens-Adaptationen für individuelle Messgeräte sind auf Anfrage erhältlich. Bitte fragen Sie ihren zuständigen Vertriebspartner.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Bestandteile des Fibrinogen-Testkits im Kühlschrank (2–8°C) lagern. Die Verfallsdaten stehen auf den Etiketten der Reagenzien. Das rekonstituierte TriniCAL-Fibrinogen ist bei 2–8°C für 24 Stunden stabil. Das gelöste Thrombin-Reagenz ist bei 2–8°C für 12 Tage oder bei Raumtemperatur (18–26°C) für 3 Tage stabil.

PROBENENTNAHME UND VORBEREITUNG

Es wird empfohlen, die Probenahme und -aufbewahrung gemäß CLSI-Richtlinie H21-A5 durchzuführen.[11] Es ist keine Testmethode bekannt, die mit vollständiger Sicherheit garantieren kann, dass eine Humanblutprobe keine Infektion überträgt. Deshalb sollten alle Blutproben und -Derivate als potenziell infektiös behandelt werden. Venenblut wird in 3,2% Natriumcitrat in einem

Verhältnis von 9 Teilen Blut zu 1 Teil Antikoagulans (Verhältnis 1:10) entnommen. Dieses Verhältnis ist äußerst wichtig. CLSI und WHO empfehlen 3,2% Natriumcitrat. Bei Verwendung kommerzieller Vakuumröhrchen muss sichergestellt werden, dass die Röhrchen vollständig gefüllt werden. Quetschungen oder Stauungen während der Blutentnahme sind zu vermeiden. Blut sollte nicht über einen Heparin-Lock-Ansatz oder einen heparinisierten Schlauch entnommen werden. Eine Probe, die ein Gerinnsel oder Mikrogerinnsel enthält, darf nicht verwendet werden. Die Probe durch behutsames Umdrehen des Röhrchens gut mischen. Zur Plasmagewinnung die Probe mit 1500 x g für mindestens 15 Minuten zentrifugieren.

Sofern die Proben nicht unmittelbar weiterverarbeitet werden, das Plasma in ein Kunststoffröhrchen überführen. Die Plasmaproben gekühlt (2–8°C) oder bei Raumtemperatur (18–25°C) aufbewahren und innerhalb von 4 Stunden untersuchen. Falls die Untersuchung innerhalb von 4 Stunden nicht durchführbar sind, können die Proben bei –70°C für bis zu 6 Monate tiefgefroren werden. Gefrorene Proben bei 37°C unter behutsamen Mischen rasch auftauen und sofort testen. Falls die Untersuchung nicht sofort durchgeführt werden kann, ist es möglich, die Proben für maximal 2 Stunden bei 4°C bis zur Untersuchung aufzubewahren. Der APTT-Wert kann bei einigen Proben, die eingefroren wurden, beeinflusst sein.

VERFAHREN

PATIENTEN-TEST:
Zur Vorbereitung des Patientenplasmas 1 Teil Plasma mit 10 Teilen Imidazol-Puffer in Kunststoffröhrchen verdünnen. Verdünnungen bei 2–8°C aufbewahren.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN
Die einschlägigen Vorsichtsmaßnahmen im Umgang mit Laborreagenzien sollten eingehalten werden. Bei der Entsorgung des Abfallmaterials sind die örtlichen, Landes- und Bundesvorschriften zu beachten.

TriniCAL Fibrinogen ist ein POTENTIELL BIOGEFÄHRDENDES MATERIAL. In den Ausgangsstoffen, aus denen dieses Produkt hergestellt wurde, konnten mit den vorgeschriebenen Testmethoden kein HbsAg und keine Antikörper gegen HCV, HIV-1 und HIV-2 nachgewiesen werden. Da jedoch keine Testmethode eine Garantie für die Abwesenheit von infektiösen Stoffen bieten kann, sollten beim Umgang mit diesem Produkt dieselben Sicherheitsvorkehrungen wie beim Umgang mit einem potentiell infektiösen Material angewendet werden.

Das Thrombin-Reagenz ist GESUNDHEITSSCHÄDLICH bei Kontakt mit der Haut und beim Verschlucken. Reizt die Augen, Atmungsorgane und die Haut. Bei Kontakt mit den Augen unverzüglich mit reichlich Wasser ausspülen und einen Arzt aufsuchen. Geeignete Schutzkleidung tragen.

Liegt beim Öffnen der Fläschchen für **TriniCAL Fibrinogen** oder das Thrombin-Reagenz kein Vakuum vor oder ist es unmöglich, reproduzierbare Werte zu erhalten, sind dies potentielle Anzeichen für einen Produktverfall.

Imidazol-Puffer enthält Natriumazid, welches GESUNDHEITSSCHÄDLICH ist bei dem Kontakt mit der Haut und beim Verschlucken. Entwickelt beim Kontakt mit Säuren sehr giftige Gase. Behälter dicht verschlossen halten. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung und Schutzhandschuhe tragen. POTENTIELL BIOGEFÄHRDENDES MATERIAL. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferleitungen unter Bildung von hochexplosiven Metallaziden reagieren. Azidanhäufung vermeiden. Bei Anzeichen von mikrobiellem Wachstum den Imidazol-Puffer verwerfen.

TESTVERFAHREN
Das Fibrinogen-Kit kann auf mechanischen und foto-optischen Messsystemen verwendet werden. Anleitungen oder Anwendungseinschränkungen sind in der Geräte-Betriebsanleitung oder den spezifischen Anwendungsinstruktionen aufgeführt.

Die Tests sollten als Doppelbestimmung durchgeführt werden, wobei alle Parameter wie Zeitablauf, Temperatur, Inkubationszeit und –Technik zur Erzielung von höchster Genauigkeit genau eingehalten werden sollten.

Bei Verwendung des KC 1™, des KC 4™ oder des Fibrometer®, werden die Verdünnungen von **TriniCAL Fibrinogen** (Fibrinogenreferenz) mit Imidazol-Puffer erstellt und gekühlt aufbewahrt (2–8°C). Ausschließlich Kunststoffröhrchen verwenden. Verdünnungen behutsam mischen. Beispiele für Verdünnungen sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Verdünnung	TriniCAL Fibrinogen (ml)	Imidazol-Puffer (ml)	Verdünnungs-Faktor
1:5	0,5	2,0	2
1:10	0,5 von 1:5 Verdünnung	0,5	1
1:15	0,4 von 1:5 Verdünnung	0,8	0,66
1:20	0,2 von 1:5 Verdünnung	0,9	0,5
1:25	0,2 von 1:5 Verdünnung	0,8	0,4
1:30	0,2 von 1:5 Verdünnung	1,0	0,33

Die 1:10-Verdünnung von **TriniCAL Fibrinogen** bezieht sich auf den auf dem Fläschchen aufgedruckten Testwert und bezeichnet diejenige Verdünnung, auf die sich alle anderen Verdünnungen beziehen. Die Werte für die anderen Verdünnungen werden über den Verdünnungsfaktor berechnet.

Die Berechnungsformel der Werte aller anderen Verdünnungen ist wie folgt:
Fibrinogen (mg/dl) = Aufgedruckter Wert von TriniCAL-Fibrinogen (mg/dl) x Verdünnungsfaktor.

Die Fibrinogen-Eichkurve wird auf Millimeterpapier oder auf doppellogarithmischem Papier erstellt. Dazu wird die Fibrinogenkonzentration (mg/dl) auf der X-Achse und die zugehörige Gerinnungszeit (Sekunden) auf der Y-Achse aufgetragen. Die Verbindung der Punkte ergibt normalerweise eine schwach gekrümmte Kurve.

KC 4 METHODE:
Kalibrationskurve und Patientenplasma:
1. Thrombinreagenz rekonstituieren und auf Raumtemperatur aufwärmen lassen (18–26°C).
2. Küvetten in einen Ständer im ungeheizten Vorbereitungsbereich stellen.
3. Je eine Kugel in jede Küvette geben.
4. 0,1 ml (100 µl) der verdünnten Probe in jede Küvette pipettieren.
5. Küvettenabdeckung schließen und Ständer aus dem Vorbereitungsbereich entnehmen. Vorsichtig 4 bis 5 mal schwenken. Ständer in den beheizten Inkubationsbereich oder in die rotierenden Messstationen stellen.
6. Für 1–3 Minuten inkubieren.
7. Ständer in die rotierenden Messstationen stellen. Abdeckung öffnen.
8. 0,05 ml (50 µl) Thrombinreagenz in jede Küvette pipettieren.
9. Gerinnungszeit in Sekunden notieren.
10. Konzentration aus der Kalibrationskurve extrapolieren.

akute Lungenembolie, hereditäre Dysfibrinogenämie, Bisse bestimmter Giftschlangen. Die Fibrinogenwerte sind erhöht unter Bedingungen von ausgedehnter Gewebenekrose, Malignomerkrankungen oder während aggressiver Chemotherapie und bei schweren Entzündungsreaktionen. Erhöhte Fibrinogenwerte können auch bei Nierenerkrankungen vorliegen, wenn andere Gerinnungsfaktoren stark unterdrückt sind.[13]

LEISTUNGSDATEN

MESSGRENZEN:
Fibrinogenkonzentrationen in einem Bereich von 100–500 mg/dl (1,0–5,0 g/L) können direkt mit diesem Verfahren bestimmt werden. Falls Plasmaproben weiter verdünnt werden, können Fibrinogenkonzentrationen von 50–1000 mg/dl (0,5–10 g/L) nachgewiesen werden.

KORRELATIONSSTUDIEN:
Für das beschriebene Verfahren wurde eine Korrelation mit einem anderen handelsüblich erhältlichen Produkt gefunden, das auf der Clauss-Methode basiert. Einhundertundzwei Proben mit Fibrinogenkonzentrationen zwischen 95 und 764 mg/dl (0,95–7,64 g/L) wurden mit dem beschriebenen Reagenz (y) und dem etablierten Reagenz (x) mit dem Fibrometer untersucht. Der Vergleich der Ergebnisse ergab einen Korrelationskoeffizienten von 0,96 und Regressions-Gleichung mit y = 0,91x + 28.3.

PRÄZISION:
Die Präzision wurde mittels des Fibrometers gemäß der CLSI-Richtlinie EP5-T2[14] unter Verwendung von Plasma mit drei verschiedenen Fibrinogenkonzentrationen bestimmt.

Dabei wurden die folgenden Daten erhalten (n = 40):

	Fibrinogen-Konzentration	Niedrig	Mittel	Hoch
	Mittelwert, mg/dl	166,4	267,2	497,1
Innerhalb Test	SD	6,8	10,0	22,5
	CV(%)	4,1	3,7	4,5
Gesamt	SD	6,7	10,7	29,8
	CV(%)	4,0	4,0	6,0

Trinity Biotech

TriniCLOT™ Fibrinogen Kit

REF T1301

TriniCLOT™ Fibrinogen Kit

REF T1302 10 x 6 ml

TriniCAL™ Fibrinogen

REF T5104 10 x 1 ml

ESPAÑOL

USO PREVISTO

El kit de **TriniCLOT Fibrinogen** está diseñado para la determinación cuantitativa del fibrinógeno en plasma.

RESUMEN Y PRINCIPIO

El fibrinógeno es la proteína plasmática precursora de la fibrina que, al entrecruzarse, se convierte en el componente principal del coágulo de fibrina. La trombina rompe el fibrinógeno para formar un monómero de fibrina. Los monómeros de fibrina se unen para formar los polímeros insolubles de la fibrina. Puede haber una deficiencia de fibrinógeno en condiciones tales como afibrinogenemia congénita, hipofibrinogenemia y en algunos casos de disfibrinogenemia. El fibrinógeno también puede ser bajo en un número de enfermedades tales como coagulación intravascular diseminada, fibrinólisis sistémica, pancreatitis y disfunción hepática grave. El fibrinógeno es una proteína reactiva de fase aguda cuya concentración aumenta en respuesta a muchos estímulos fisiológicos diferentes. Puede aumentar en respuesta a estados inflamatorios o infecciones, durante el embarazo y después de ciertos estados traumáticos. Suele ser alto en los fumadores.[1,2] Los niveles altos de fibrinógeno en plasma se han relacionado con estados pretrombóticos. Asimismo, se ha demostrado una relación directa entre los niveles de fibrinógeno y el desarrollo de enfermedades cardiovasculares como la arterioesclerosis, el infarto de miocardio o los accidentes cerebrovasculares.[3,4] Debido a la importancia creciente de la estimación de los niveles de fibrinógeno, es necesario un procedimiento fiable y sensible.

La mayoría de los métodos para determinar la concentración de fibrinógeno asumen que la trombina convertirá cuantitativamente el fibrinógeno a fibrina. La estimación de la concentración en base al peso o contenido proteico del coágulo de fibrina formado puede estar sujeta a importantes errores debido a la presencia de inhibidores que provocarán la formación de coágulos pequeños o ausencia de coágulos. La plasmina también puede producir lisis significativa del coágulo formado antes de que pueda ser completada la determinación final de fibrinógeno. Se han descrito procedimientos alternos basados en la precipitación con sulfato de amonio[5,6] pero estos no correlacionan con los tiempos de coagulación de la trombina cuando los niveles de fibrinógeno están por debajo de 100 mg/dl (1.0 g/L).[7]

Para fines diagnósticos, la determinación de la actividad biológica (es decir, la capacidad de coagulación) es mas útil que la cantidad de fibrinógeno circulante. El método de Clauss[8] mide la tasa de conversión de fibrinógeno en fibrina en la presencia de un exceso de trombina y ha demostrado ser rápido, sensible y preciso.[9,10] El procedimiento descrito aquí está basado en el método de Clauss.

Cuando el plasma diluido se coagula con exceso de trombina, el nivel de fibrinógeno es inversamente proporcional al tiempo de coagulación, dando lugar a una relación curvilínea cuando se procede a su representación gráfica en papel. Se utiliza una curva de calibración preparada con una referencia de fibrinógeno para determinar la concentración de fibrinógeno en la muestra.

REACTIVO

Uso diagnóstico *in vitro*

El tampón de imidazol contiene acida de sodio, que es NOCIVA. Produce daños si entra en contacto con la piel o si se ingiere. El contacto con ácidos libera un gas muy tóxico. Mantenga el contenedor herméticamente cerrado. Lleve ropa y guantes protectores adecuados. MATERIAL CON RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL. La acida de sodio puede reaccionar con piezas de plomo y cobre, dando como resultado acidas metálicas altamente explosivas. Evite la acumulación de acidas. Deseche el tampón de imidazol si hay signos de crecimiento microbiano.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA
El kit de fibrinógeno puede emplearse mediante técnicas mecánicas y foto-ópticas. Consulte el manual de funcionamiento del instrumento o la aplicación específica del instrumento para obtener instrucciones e información sobre las limitaciones del procedimiento.

Realice todas las pruebas por duplicado, prestando atención a la reproducción del cronometraje, la temperatura, la incubación y la técnica para lograr una mayor precisión.

Al utilizar KC 1™, KC 4™ o Fibrometer®, prepare diluciones de **TriniCAL Fibrinogen** con tampón de imidazol y conserve las diluciones refrigeradas (2–8°C). Utilice en todo momento tubos de plástico. Mezcle los tubos suavemente.

A continuación, se ofrecen ejemplos de diluciones:

Dilución	TriniCAL Fibrinogen (ml)	Tampón de imidazol (ml)	Factor de dilución
1:5	0,5	2,0	2
1:10	0,5 de la dilución 1:5	0,5	1
1:15	0,4 de la dilución 1:5	0,8	0,66
1:20	0,2 de la dilución 1:5	0,9	0,5
1:25	0,2 de la dilución 1:5	0,8	0,4
1:30	0,2 de la dilución 1:5	1,0	0,33

La dilución 1:10 del **TriniCAL Fibrinogen** define el valor analizado indicado en la etiqueta del vial y es la dilución con la cual están relacionadas las otras diluciones. El factor de dilución indica la relación entre la dilución 1:10 y todas las otras diluciones.

Los valores de las demás diluciones se calculan de la manera siguiente:
Valor analizado del **TriniCAL Fibrinogen** (mg/dl) x Factor de dilución = Fibrinógeno en mg/dl

Los resultados de la curva de calibración de fibrinógeno se muestran en el papel de gráficas suministrado o en papel de gráficas log x log de dos ciclos con la concentración de fibrinógeno (mg/dl) en el eje x y el tiempo de coagulación (segundos) en el eje y. La curva que conecta los puntos generalmente es curvilínea.

MÉTODO DE KC 4:
Curva de calibración y prueba del plasma del paciente:
1. Reconstituya el reactivo de trombina y caliéntelo hasta temperatura ambiente (18–26°C).
2. Coloque las cubetas en un bastidor colocado en el área de preparación sin calentamiento.
3. Introduzca una bola en cada cubeta.
4. Añada 0,1 ml (100 µl) de la dilución de la muestra a cada cubeta.
5. Cierre la tapa, retire el bastidor del área de preparación y agite suavemente 4–5 veces. Transfiera la cubeta al área de incubación con calentamiento o a las posiciones rotativas de prueba.
6. Incube durante 1–3 minutos.
7. Coloque bastidor en las posiciones rotativas de prueba. Abra la tapa.
8. Introduzca 0,05 ml (50 µl) de reactivo de trombina en cada cubeta.
9. Anote los resultados del tiempo de coagulación en segundos.
10. Extrapole la concentración a partir de la curva de calibración.

MÉTODO DE BBL FIBROMETER:
Curva de calibración y prueba del plasma del paciente:
1. Reconstituya el reactivo de trombina y manténgalo a temperatura ambiente (18–26°C) durante la prueba.
2. Añada 0,2 ml (200 µl) de la muestra de plasma diluida a una copa de Fibrometer.
3. Incube durante 1–3 minutos a 37°C. (No más de 5 minutos.)
4. Después de la incubación, extraiga rápidamente 0,1 ml (100 µl) del reactivo de trombina en la copa de Fibrometer y, al mismo tiempo, active el cronómetro.
5. Anote los resultados del tiempo de coagulación en segundos.
6. Extrapole la concentración a partir de la curva de calibración.

Las sondas deben lavarse y secarse entre una prueba y otra para evitar el arrastre de proteínas plasmáticas activadas. Para una limpieza eficaz, las sondas de Fibrometer deben sumergirse en agua y frotarse CON FUERZA después de cada determinación. No basta con secarlas con papel secante.

CONTROL DE CALIDAD
La fiabilidad de los resultados de la prueba debe controlarse mediante el material de control normal y anormal durante cada análisis. TriniCHECK Control 1 o el TriniCHECK Level 1 y el TriniCHECK Fibrinogen Low Control son adecuados para este fin. El laboratorio debe establecer un intervalo de control para determinar la variación permisible en el funcionamiento diario para cada nivel de control. También puede utilizarse el programa Reliant C de **Trinity Biotech** para controlar el funcionamiento del ensayo. Los resultados del control que queden fuera de los límites superior o inferior de los intervalos establecidos indican que el ensayo puede estar fuera de control. El incumplimiento de las especificaciones de control de calidad debe investigarse y resolverse. Si los problemas persisten, póngase en contacto con el Departamento de Servicio Técnico de **Trinity Biotech.**

RESULTADOS

Utilice la curva de calibración para leer los valores de la prueba de fibrinógeno de la siguiente manera: Determine el punto en el cual el tiempo de coagulación de la dilución 1:10 del plasma en prueba (eje y) intercepta la curva de calibración. Lea el valor de fibrinógeno en mg/dl correspondiente (eje x).

Si el tiempo de coagulación de la dilución 1:10 del plasma en prueba supera el tiempo de coagulación del punto de la última dilución de la curva de calibración, realice una dilución 1:5 del plasma analizado y repita el ensayo. La concentración de fibrinógeno resultante, en mg/dl, deberá multiplicarse por el factor de dilución 0,5 para obtener la concentración de fibrinógeno correcta, en mg/dl, correspondiente a la muestra analizada. Si el tiempo de coagulación de la dilución 1:10 del plasma en prueba es inferior al tiempo de coagulación del punto de la última dilución de la curva de calibración, realice una dilución 1:20 del plasma analizado y repita el ensayo. La concentración de fibrinógeno resultante, en mg/dl, deberá multiplicarse por el factor de dilución 2 para obtener la concentración de fibrinógeno correcta, en mg/dl, correspondiente

Trinity Biotech

TriniCLOT™ Fibrinogen Kit

REF T1301

TriniCLOT™ Fibrinogen

REF T1302 10 x 6 ml

TriniCAL™ Fibrinogen

REF T5104 10 x 1 ml

ITALIANO

INDICAZIONI D'USO

Il kit **TriniCLOT Fibrinogen** permette di determinare in modo quantitativo il fibrinogeno presente nel plasma.

RIEPILOGO E PRINCIPIO

I fibrinogeno è la proteina plasmatica precursore della fibrina; quando il fibrinogeno viene legato diventa il componente principale del coagulo formato dalla fibrina. La trombina degrada il fibrinogeno per formare un monomero di fibrina. I monomeri di fibrina si aggregano a formare i polimeri insolubili di fibrina. Il fibrinogeno può essere deficitario in condizioni quali l'afibrinogenemia congenita, l'ipofibrinogenemia ed in alcuni casi di disfibrinogenemia. Esso può anche essere deficitario in alcuni stati patologici, quali la coagulazione intravascola re disseminata, la fibrinolisi sistemica, la pancreatite e la disfunzione epatica severa. Il fibrinogeno è una proteina altamente reattiva in fasi acute e la sua concentrazione aumenta in risposta a molti differenti stimoli fisiologici. Può aumentare in stati infiammatori, a seguito di infezioni, durante la gravidanza e dopo traumi. È presente in concentrazione elevata tra i fumatori.[1,2] Alti livelli di fibrinogeno nel plasma sono stati associati a stati pre-trombotici. I livelli di fibrinogeno sono stati anche positivamente correlati allo sviluppo dei disordini cardiovascolari aterosclerotici e alla apparizione di infarto del miocardio e a colpo apoplettico.[3,4] In considerazione dell'aumentata importanza di misurare i livelli di fibrinogeno è necessario avvalersi di un metodo che sia contemporaneamente affidabile e sensibile.

La maggior parte dei metodi in uso per la determinazione della concentrazione di fibrinogeno si basano sull'assunzione che la trombina converte quantitativamente il fibrinogeno in fibrina. La valutazione della concentrazione basata sul peso o sul contenuto di proteina del coagulo della fibrina può essere soggetta a gravi errori dovuti alla presenza di inibitori che causano la formazione di un coagulo piccolo o nullo. La plasmina può anche produrre significativa lisi del coagulo formato prima che la determinazione finale del fibrinogeno sia completata. Sono state descritte procedure alternative basate sulla precipitazione del solfato di ammonio[5,6] ma i risultati ottenuti non correlano con i tempi di formazione del coagulo trombinico quando i livelli di fibrinogeno sono inferiori a 100 mg/dl (1,0 g/L).[7]

La determinazione dell'attività biologica (ad esempio l'abilità di formazione del coagulo) fornisce una valutazione più accurata per la diagnostica che la quantità di fibrinogeno circolante. Il metodo di Clauss[8] misura la velocità di conversione del fibrinogeno in fibrina in presenza di eccesso di trombina ed è stato dimostrato che questo è un metodo rapido, sensibile e preciso.[9,10] La procedura qui descritta si basa sul metodo di Clauss.

Quando il plasma diluito è fatto coagulare in presenza di un eccesso di trombina, il livello di fibrinogeno è inversamente proporzionale al tempo di coagulazione, fornendo una relazione concentrazione/tempo di tipo curvilineo quando viene messa in grafico su carta log-log. Per determinare la concentrazione di fibrinogeno nel campione all'esame, si usa una curva di calibrazione costruita con un fibrinogeno di riferimento.

REAGENTE

Per uso diagnostico *in vitro*.

DESCRIZIONE DEL REAGENTE
TriniCAL Fibrinogen, 2 x 1 ml, catalogue no. T5104A
Plasma umano citrato liofilizzato contenente tampone e conservanti. Il valore del fibrinogeno sull'etichetta è determinato con la tecnica Clauss, attribuibile al Secondary Coagulation Standard ISTH.
TriniCLOT Fibrinogen 6 ml, reagent, 3 x 6 ml, catalogue no. T1302A
Preparazione liofilizzata contenente trombina bovina, approssimativamente 75 NIH U/ml, tampone, stabilizzanti e conservanti.
TriniCLOT Imidazole Buffer, 2 x 20 ml, catalogue no. T1901A
Imidazolo, 30 mmol/L, e cloruro di sodio, 125 mmol/L. Sodio azide, 0,1% aggiunto come conservante, pH 7,35.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE
Ricostituire il **TriniCAL Fibrinogen** in 1,0 ml di acqua distillata o deionizzata. Chiudere il contenitore ed aspettare che il composto sia completamente dissolto. Capovolgere delicatamente per mescolare. NON AGITARE.

Ricostituire il reagente trombina in 6,0 ml di acqua distillata o deionizzata. Chiudere il contenitore ed aspettare che il composto sia completamente dissolto. Capovolgere periodicamente. NON AGITARE.

Il Tampone Imidazolo è fornito come liquido e non richiede alcuna preparazione prima dell'uso.

NOTE:
1. Non usare acqua distillata contenente conservanti.
2. Se il reagente trombina è rimosso dal contenitore originale durante le misure o refrigerato per essere conservato, usare solamente contenitori in polipropilene o vetro siliconato.

SOSTANZE AGGIUNTIVE RICHIESTE
Materiale di controllo
Analizzatore di coagulazione

SOSTANZE DISPONIBILI
TriniCHECK Control I o TriniCHECK Level I
TriniCHECK Fibrinogen Low Control
Analizzatore di coagulazione

STRUMENTI
Adattamenti per applicazioni/metodo per singoli analizzatori sono disponibili a richiesta, si prega di contattare il rappresentante locale

Vorsichtig 4 bis 5 mal schwenken. Ständer in den beheizten Inkubationsbereich oder in die rotierenden Messstationen stellen.
6. Für 1–3 Minuten inkubieren.
7. Ständer in die rotierenden Messstationen stellen. Abdeckung öffnen.
8. 0,05 ml (50 µl) Thrombinreagenz in jede Küvette pipettieren.
9. Gerinnungszeit in Sekunden notieren.
10. Konzentration aus der Kalibrationskurve extrapolieren.

BBL FIBROMETER METHODE:
Kalibrationskurve und Patientenplasma:
1. Thrombin-Reagenz rekonstituieren und während des Tests bei Raumtemperatur (18–26°C) halten.
2. 0,2 ml (200 µl) der verdünnten Plasmaprobe in das Fibrometergefäß pipettieren.
3. Bei 37°C für 1–3 Minuten inkubieren (maximal 5 Minuten).
4. Nach der Inkubation sofort 0,1 ml (100 µl) Thrombinreagenz in das Fibrometergefäß geben und gleichzeitig die Stoppuhr starten.
5. Die Ergebnisse der Gerinnungszeit in Sekunden notieren.
6. Konzentration aus der Kalibrationskurve extrapolieren.

Die Elektroden müssen zwischen den Tests gewaschen und getrocknet werden, um ein Verschleppen der bereits aktivierten Plasmaproteine zu vermeiden. Zur gründlichen Reinigung sollten die Fibrometer-Elektroden nach jeder Bestimmung vollständig in Wasser getaucht und GRÜNDLICH abgewischt werden. Einfaches Trockentupfen reicht nicht aus.

QUALITÄTSKONTROLLE:
Die Zuverlässigkeit der Testergebnisse sollte bei jedem Testlauf anhand normaler und abnormaler Kontrollen überwacht werden. TriniCHECK Control 1 oder TriniCHECK Level 1 und TriniCHECK-Fibrinogen Low Control sind für diesen Zweck geeignet. Das Labor sollte für jeden Level der Kontrollen einen Referenzbereich für die zulässigen täglichen Schwankungen bestimmen. Das Reliant C-Programm von Trinity Biotech kann ebenfalls zur Überwachung der Testleistung verwendet werden. Wenn die Kontrollergebnisse außerhalb der oberen oder unteren Grenzwerte der festgelegten Bereiche liegen, ist der Test ggf. ungültig. Wenn die Qualitätskontrollkriterien nicht erfüllt werden, sollte die Ursache ermittelt und beseitigt werden. Falls die Probleme nicht zu lösen sind, setzen Sie sich bitte mit dem technischen Kundendienst von Trinity Biotech in Verbindung.

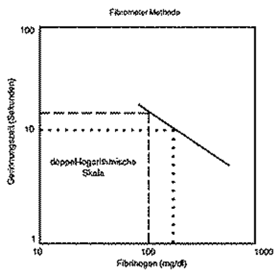
ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der Fibrinogen-Testwerte werden wie folgt aus der Kalibrationskurve abgelesen: Zur Ermittlung des Fibrinogenwertes wird auf der Y-Achse der Punkt ermittelt, an dem die Gerinnungszeit für die 1:10-Verdünnung der Testplasma-Verdünnung die Eichkurve schneidet. Der entsprechend senkrecht darunter auf der X-Achse liegende Fibrinogenwert wird in mg/dl abgelesen.

Falls die Gerinnungszeit der 1:10-Verdünnung von dem Testplasma (Patientenplasma) die Gerinnungszeit von dem letzten Verdünnungspunkt der Eichkurve übersteigt, eine 1:5-Verdünnung von dem Testplasma herstellen und den Test wiederholen. Die erhaltene Fibrinogenkonzentration in mg/dl muss mit dem Verdünnungsfaktor 0,5 multipliziert werden, um die korrekte Fibrinogenkonzentration in mg/dl von der Patientenprobe zu erhalten. Falls die Gerinnungszeit der 1:10-Verdünnung von dem Testplasma kürzer als die Gerinnungszeit von dem letzten Verdünnungspunkt der Eichkurve ist, sollte eine 1:20-Verdünnung von dem Testplasma hergestellt und der Test wiederholt werden. Die erhaltene Fibrinogenkonzentration in mg/dl muss mit dem Verdünnungsfaktor 2 multipliziert werden, um die korrekte Fibrinogenkonzentration in mg/dl von der Patientenprobe zu erhalten. Wenn andere Verdünnungen im Test eingesetzt werden, sollte der erhaltene Wert mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multipliziert werden.

Eine typische Standardkurve, die unter Verwendung des Fibrometers erhalten wird, ist in Abbildung 1 dargestellt. Eine 1:10-Verdünnung des Testplasmas ergab eine Gerinnungszeit von 12,2 Sekunden. Die zugehörige Fibrinogenkonzentration der Eichkurve beträgt 200 mg/dl (2,0 g/L). wie durch die gepunkteten Linien dargestellt. Eine 1:20-Verdünnung desselben Plasmas ergab eine Gerinnungszeit von 21,0 Sekunden (Abbildung 1), die einer Fibrinogenkonzentration von 100 mg/dl auf der Eichkurve entspricht. Dieser Wert multipliziert mit dem Verdünnungsfaktor 2 ergibt wiederum 200 mg/dl (2,0 g/L).

Figure 1



HINWEIS: Die oben abgebildete typische Eichkurve kann nicht zur Berechnung von Laborergebnissen verwendet werden. Jedes Labor muss selbst eine Eichkurve erstellen.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE
Die niedrigste empfohlene Testverdünnung ist 1:3. Unverdünntes Plasma kann nicht eingesetzt werden, da störende Substanzen und Inhibitoren die Richtigkeit der Ergebnisse beeinflussen können.

Die kürzeste Messzeit für die KC 1-/KC 4- Messanordnung beträgt ungefähr 4,5 Sekunden. Wenn eine Gerinnungszeit von 4,5 Sekunden erhalten wird, sollte die Messung der Probe mit einer anderen Verdünnung wiederholt werden.

Die Ergebnisse werden durch übliche therapeutische Konzentrationen an Heparin (bis zu 3,0 USP-Einheiten/ml) nicht beeinflusst, wie es mit Proben von gerinnungsgestörten Patienten beobachtet wurde. Für Fibrin-Spaltprodukte (FDP) ist berichtet worden, dass sie die Thrombinwirkung auf Fibrinogen und die Fibrinpolymerisation hemmen. FDP weist eine minimale Wirkung auf den Fibrinogen-Test bei normalen Fibrinogenwerten auf. Bei Fibrinogenkonzentrationen unterhalb von 150 mg/dl (1,5 g/L) können FDP bei Konzentrationen größer als 100 µg/ml zunehmend den Clauss-Test hemmen.[1]

ERWARTETE ERGEBNISSE
Der Normbereich der Fibrinogenwerte in menschlichem Plasma liegt im Allgemeinen zwischen 175–400 mg/dl (1,75–4,00 g/L). Jedoch sollte aufgrund von Verfahrensunterschieden zwischen den Laboratorien jedes Labor seinen eigenen Mittelwert und Normbereich etablieren (Mittelwert ± 2 SD).
Die folgenden Erkrankungen sind mit niedrigen Fibrinogenwerten verbunden: Lebererkrankungen, traumatische und infektiöse, akute Verbrauchskoagulopathie, Fibrinolyse,

inversamente proporcional al tiempo de coagulación, dando lugar a una relación curvilínea cuando se procede a su representación gráfica en papel. Se utiliza una curva de calibración preparada con una referencia de fibrinógeno para determinar la concentración de fibrinógeno en la muestra.

REACTIVO

Uso diagnóstico *in vitro*

TriniCAL Fibrinogen, 2 x 1 ml, catalogue number T5104A
Plasma humano con citrato, liofilizado, con tampón y conservante. El valor de fibrinógeno indicado en la etiqueta se determina mediante el método de Clauss y está documentado en la Norma Secundaria de Coagulación de la ISTH (Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasis).
TriniCLOT Fibrinogen 6 ml, reactivo, 3 x 6 ml, catalogue no. T1302A
Preparación liofilizada con trombina bovina, aproximadamente 75 U NIH/ml, tampón, estabilizadores y conservante.
TriniCLOT Imidazole Buffer, 2 x 20 ml, catalogue no. T1901A
Imidazol, 30 mmol/L, y cloruro de sodio, 125 mmol/L. Acida de sodio al 0,1% añadida como conservante. pH 7,35.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO
Reconstituya el **TriniCAL Fibrinogen** con 1,0 ml de agua destilada o desionizada. Tape de nuevo el vial y déjelo reposar hasta que esté completamente disuelto. Inviértalo suavemente para mezclarlo. NO LO AGITE.

Reconstituya el reactivo de trombina con 6,0 ml de agua destilada o desionizada. Tape de nuevo el vial y déjelo reposar hasta que esté completamente disuelto. Inviértalo periódicamente. NO LO AGITE.

El tampón de imidazol se suministra como un líquido y no requiere preparación antes de su uso.

NOTAS:
1. No utilice agua destilada que contenga conservantes.
2. Si extrae el reactivo de trombina de su vial original durante la prueba o mientras está almacenado en refrigeración, colóquelo solamente en recipientes de polipropileno o de vidrio siliconizado.

MATERIALES ADICIONALES NECESARIOS
Material de control
Analizador de coagulación

MATERIALES DISPONIBLES
TriniCHECK Control 1 o TriniCHECK Level 1
TriniCHECK Fibrinogen Low Control
Analizador de coagulación

INSTRUMENTOS
Existen adaptadores de método/aplicaciones para analizadores específicos si se solicitan. Para hacerlo, póngase en contacto con su comercial local.

ALMACENAJE Y ESTABILIDAD

Conserve los reactivos del kit de fibrinógeno en refrigeración (2–8°C). Las etiquetas de los reactivos contienen las fechas de caducidad. El fibrinógeno reconstituido es estable durante 24 horas si se conserva a 2–8°C. El reactivo de trombina reconstituido es estable durante 12 días a 2–8°C o durante tres días a temperatura ambiente (18–26°C).

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Se recomienda que la recolección y el almacenamiento de las muestras se lleven a cabo de acuerdo con el documento H21-A5[11] del CLSI. Ningún método de prueba conocido puede ofrecer una total seguridad de que las muestras de sangre humana no transmitan infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre deben considerarse potencialmente infecciosos. La sangre venosa se recolecta con citrato de sodio al 3,2% en una proporción de nueve partes de sangre por una parte de anticoagulante (proporción 1:10). La proporción es vital. El CLSI y la OMS recomiendan un 3,2% de citrato sódico. Si usa tubos al vacío comerciales, debe asegurarse de llenarlos completamente. Se debe evitar el trauma o la estasis durante la extracción. La sangre no debe recolectarse a través de un cierre de heparina u otra vía heparinizada. La presencia de un coágulo en la muestra es una causa de rechazo. Después de la obtención, mezcle bien el tubo invirtiéndolo con cuidado contra el tapón. Para obtener una muestra de plasma, centrifugue a 1500 x g durante no menos de 15 minutos.

A menos que las muestras se vayan a procesar de inmediato, transfiera el plasma a un tubo de plástico. Conserve las muestras de plasma refrigeradas (2–8°C) o a temperatura ambiente (18–25°C) y realice la prueba en las 4 horas siguientes. Si la prueba no finaliza en las 4 horas siguientes, congele la muestra a –70°C durante un máximo de seis meses. Las muestras de plasma congeladas se deben descongelar rápidamente a 37°C mientras se mezclan con cuidado; las pruebas se deben realizar de inmediato. Si las pruebas no se pudieran realizar de inmediato, la muestra se puede conservar durante un máximo de 2 horas a 4°C hasta que se realicen dichas pruebas. El APTT se puede ver afectado en algunas muestras que se hubieran congelado.

PROCEDIMIENTO

ENSAYO DEL PACIENTE:
El plasma para pruebas de pacientes se prepara mediante la dilución de plasma con tampón de imidazol con una proporción 1:10 en tubos de plástico. Almacene las disoluciones a 2–8 °C.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES
Se deben seguir las precauciones normales establecidas para el manejo de reactivos en el laboratorio. Deseche los residuos de acuerdo con la legislación local, nacional y regional.

El **TriniCAL Fibrinogen** es un MATERIAL QUE PODRÍA SUPONER UN RIESGO BIOLÓGICO. Métodos de prueba aprobados indican que los materiales originales de los que deriva este producto muestran resultados negativos de AgHBs, así como anticuerpos contra el VHC, el VIH-1 y el VIH-2. Sin embargo, como no hay ningún método de prueba que pueda garantizar por completo que no existan agentes infecciosos, este producto deberá manejarse cumpliendo las mismas precauciones de seguridad que cuando se manipula material potencialmente infeccioso.

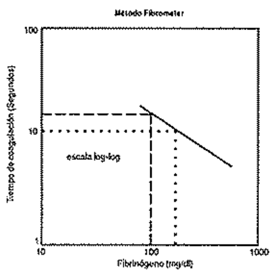
El reactivo de trombina es NOCIVO. Produce daños si entra en contacto con la piel o si se ingiere. Produce irritación en los ojos, en el sistema respiratorio y en la piel. En caso de contacto con los ojos, lávelos inmediatamente con abundante agua y consulte a un médico. Lleve ropa de protección adecuada.

La ausencia de vacío al abrir un vial de reactivo de trombina o **TriniCAL Fibrinogen**, o la incapacidad para obtener valores reproducibles son posibles signos de deterioro del producto.

del plasma analizado y repita el ensayo. La concentración de fibrinógeno resultante, en mg/dl, deberá multiplicarse por el factor de dilución 0,5 para obtener la concentración de fibrinógeno correcta, en mg/dl, correspondiente a la muestra analizada. Si el tiempo de coagulación de la dilución 1:10 del plasma en prueba es inferior al tiempo de coagulación del punto de la última dilución de la curva de calibración, realice una dilución 1:20 del plasma analizado y repita el ensayo. La concentración de fibrinógeno resultante, en mg/dl, deberá multiplicarse por el factor de dilución 2 para obtener la concentración de fibrinógeno correcta, en mg/dl, correspondiente a la muestra analizada. Si se prueban otras diluciones, el valor obtenido deberá multiplicarse por el factor de dilución correspondiente.

En la figura 1, se muestra una curva típica obtenida mediante Fibrometer. Una dilución 1:10 del plasma en prueba dio como resultado un tiempo de coagulación de 12,2 segundos. La concentración de fibrinógeno que indica la curva de calibración es de 200 mg/dl (2,0 g/L), como indican las líneas punteadas. Una dilución 1:20 del mismo plasma indicó un tiempo de coagulación de 21,0 segundos (figura 1). La concentración de fibrinógeno que indica la curva es de 100 mg/dl (1,9 g/L). Este valor se ha multiplicado por el factor de dilución 2, lo que da como resultado un valor de fibrinógeno de 200 mg/dl (2,0 g/L).

Figura 1



NOTA: La curva de calibración típica que se muestra más arriba no puede emplearse para ofrecer resultados de laboratorio. Cada laboratorio debe preparar una curva de calibración.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS
La dilución más baja recomendada de la prueba es 1:3. No se puede emplear plasma sin diluir, ya que los inhibidores y las sustancias que interfieren pueden afectar a la precisión de los resultados.

El tiempo de medición más corto para el instrumento KC 1/KC 4 es de unos 4,5 segundos. Cuando obtenga un tiempo de coagulación de 4,5 segundos, vuelva a ejecutar la muestra con una dilución diferente.

Los resultados no se ven excesivamente afectados por niveles terapéuticos de heparina habituales (hasta 3,0 USP U/ml) detectados en pacientes anticoagulados. Se ha indicado que los productos de degradación de la fibrina (PDF) pueden inhibir la acción de la trombina sobre el fibrinógeno y la polimerización de la fibrina. Los PDF tienen un efecto mínimo en un ensayo de fibrinógeno con niveles normales de fibrinógeno. En concentraciones de fibrinógeno por debajo de 150 mg/dl (1,5 g/L), una concentración de PDF superior a 100 g/ml puede inhibir en mayor medida el ensayo de Clauss.[1]

RESULTADOS ESPERADOS
El margen normal de nivel de fibrinógeno en el plasma humano suele encontrarse en un rango de 175–400 mg/dl (1,75–4,00 g/L).[12] Sin embargo, debido a las variaciones existentes entre los laboratorios, cada laboratorio debería establecer su propio intervalo medio y normal (DE media de ± 2).

Se han asociado a niveles bajos de fibrinógeno las condiciones siguientes:
enfermedad hepática traumática e infecciosa, coagulopatía de consumo aguda, fibrinólisis, embolia pulmonar aguda, disfibrinogenemia hereditaria, mordeduras de ciertas serpientes venenosas.

Los valores de fibrinógeno aumentan en condiciones que implican una necrosis tisular extensa, como en el caso de tumores malignos activos o quimioterapia agresiva, así como de respuestas inflamatorias graves. Puede haber niveles elevados de fibrinógeno en caso de enfermedad renal, cuando otros factores de coagulación se ven reducidos de forma significativa.[13]

CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

LÍMITES DE LA MEDICIÓN:
Mediante este procedimiento, se pueden detectar directamente concentraciones de fibrinógeno en un intervalo de 100–500 mg/dl (1,0–5,0 g/L). Si las muestras de plasma se diluyen aún más, se pueden detectar concentraciones de fibrinógeno de 50–1.000 mg/dl (0,5–10,0 g/L).

ESTUDIOS DE CORRELACIÓN:
Se ha descubierto que el procedimiento descrito se relaciona bien con otro producto disponible comercialmente basado en el método de Clauss. Se analizaron en Fibrometer 102 muestras con concentraciones de fibrinógeno entre 95 y 764 mg/dl (0,95–7,64 g/L) utilizando el reactivo descrito (y), así como un reactivo establecido (x). La comparación de los resultados arrojó un coeficiente de correlación de 0,96 y una ecuación de regresión de $y = 0{,}91x + 28{,}3$.

PRECISIÓN:
Se determinó la precisión en Fibrometer de acuerdo con la publicación EP5-T2[14] del CLSI con plasma que contenía tres niveles de fibrinógeno.

Se obtuvieron los datos siguientes (n = 40):

	Nivel de fibrinógeno	Bajo	Medio	Alto
	Media, mg/dl	166,4	267,2	497,1
En un mismo análisis	DE	6,8	10,0	22,5
	CV(%)	4,1	3,7	4,5
Total	DE	6,7	10,7	29,8
	CV(%)	4,0	4,0	6,0

SOSTANZE DISPONIBILI
TriniCHECK Control I o TriniCHECK Level I
TriniCHECK Fibrinogen Low Control
Analizzatore di coagulazione

STRUMENTI
Adattamenti per applicazioni/metodo per singoli analizzatori sono disponibili a richiesta, si prega di contattare il rappresentante locale.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare il kit con i reagenti per il fibrinogeno in frigorifero (2–8°C). Le etichette dei reagenti riportano la data di scadenza. Il **TriniCAL Fibrinogen** ricostituito è stabile per 24 ore quando tenuto a 2–8°C. Il reagente trombina ricostituito è stabile per 12 giorni a 2–8°C o per 3 giorni a temperatura ambiente (18–26°C).

RACCOLTA DEL CAMPIONE E PREPARAZIONE

Si raccomanda che la raccolta del campione e la sua conservazione siano fatte in accordo con il documento H21-A5 CLSI.[11] Non esiste alcuna metodologia di analisi che può offrire completa sicurezza che i campioni di sangue umano non trasmettano infezioni. Quindi, tutti derivati del sangue devono essere considerati potenzialmente infettivi. Sangue venoso viene raccolto in sodio citrato al 3,2% in un rapporto di 9 parti di sangue e 1 parte di antigoagulante (rapporto 1:10). Il rapporto è critico. Il sodio citrato al 3,2% è raccomandato dal CLSI e dall'OMS. Se si usano tubi sotto vuoto commerciali, ci si deve assicurare che il volume del prelievo sia corretto. Trauma o stasi durante l'estrazione devono essere evitati. Il sangue non deve essere raccolto attraverso sistemi eparinati di alcun tipo. La presenza di un coagulo o di un microcoagulo nel campione è causa di rigetto. Mescolare bene il tubo capovolgendolo delicatamente dopo la raccolta del campione. Per ottenere un campione di plasma, centrifugare a 1500 x g per almeno 15 minuti.

Salvo il caso in cui i campioni debbano essere elaborati immediatamente, trasferire il plasma in una provetta da analisi in plastica. I campioni di plasma possono essere conservati refrigerati (2–8°C) o a temperatura ambiente (18–25°C) fino a 4 ore. Se il test non è stato completato entro 4 ore, è possibile congelare il campioni a –70°C fino a un massimo di 6 mesi. Scongelare i campioni congelati rapidamente a 37°C, mescolando delicatamente, ed analizzarli immediatamente. Se l'analisi non può essere eseguita immediatamente, i campioni devono essere mantenuti per un massimo di 2 ore a una temperatura di 4° fino al momento del test. Il test di APTT può essere influenzato in alcuni campioni che sono stati congelati.

PROCEDURA

TEST DEL PAZIENTE:
I campioni di plasma del paziente vengono preparati diluendo il plasma 1:10 con tampone imidazolo in provette di plastica. Conservare le diluizioni a 2–8°C.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI
Le usuali precauzioni per la manipolazione dei reagenti di laboratorio devono essere seguite. Lo scarico dei rifiuti deve essere fatto osservando tutte le leggi locali, statali e federali.

Il **TriniCAL Fibrinogen** è un MATERIALE A POTENZIALE RISCHIO BIOLOGICO. I composti originari da cui questo prodotto è stato derivato, sono stati trovati negativi per HBsAg e per gli anticorpi contro HCV, HIV-1 e HIV-2 attraverso metodologie di analisi approvate. Tuttavia, dal momento che nessuna analisi può offrire sicurezza completa che gli agenti infettivi siano assenti, questo prodotto deve essere maneggiato osservando le stesse precauzioni di sicurezza usate quando si maneggia qualunque tipo di materiale potenzialmente infettivo.

Il Reagente Trombina è NOCIVO se viene a contatto con la pelle e se ingerito. È irritante per gli occhi, il sistema respiratorio e la pelle. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con molta acqua e consultare un medico. Indossare vestiario protettivo appropriato.

In assenza di vuoto al momento dell'apertura delle fiale di **TriniCAL Fibrinogen** o reagente trombina, o l'impossibilità di ottenere valori riproducibili sono potenziali segni di deterioramento del prodotto.

Il Tampone Imidazolo contiene azoturo di sodio che è NOCIVO se viene a contatto con la pelle e se ingerito. A contatto con acidi, libera gas altamente tossici. Organi bersaglio: nervi e sistema cardiovascolare. Tenere il contenitore fermamente chiuso. Indossare vestiario protettivo e guanti. L'azoturo di sodio può reagire con le tubature di piombo e rame formando azoturi metallici. Evitare l'accumulo di azide. Eliminare il tampone imidazolo in caso di presenza di flora microbica.

PROCEDURA DI ANALISI
Il kit per il fibrinogeno può essere usato con tecniche meccaniche o foto-ottiche. Riferirsi al manuale di istruzioni dello strumento o alle istruzioni per le applicazioni specifiche dello strumento per le limitazioni di procedura.

Eseguire tutte le analisi in duplicato facendo attenzione di riprodurre le stesse condizioni di tempo, temperatura, incubazione, e tecnica per la più alta precisione.

Quando si usano gli strumenti KC 1™, KC 4™ o il Fibrometer®, preparare diluizioni di **TriniCAL Fibrinogen** con tampone imidazolo e conservare le diluizioni refrigerate (2–8°C). Usare sempre provette di plastica. Capovolgere i tubi gentilmente per mescolare.

Esempi di diluizioni di fibrinogeno di riferimento sono dati di seguito:

Diluizione	TriniCAL Fibrinogen (ml)	Tampone Imidazolo (ml)	Fattore di diluizione
1:5	0,5	2,0	2
1:10	0,5 di 1:5 diluizione	0,5	1
1:15	0,4 di 1:5 diluizione	0,8	0,66
1:20	0,2 di 1:5 diluizione	0,9	0,5
1:25	0,2 di 1:5 diluizione	0,8	0,4
1:30	0,2 di 1:5 diluizione	1,0	0,33

La diluizione 1:10 del **TriniCAL Fibrinogen** definisce il valore dell'analisi riportato sull'etichetta del contenitore ed è la diluizione a cui tutte le altre diluizioni si riferiscono. Il fattore di diluizione indica la relazione tra la diluizione 1:10 e tutte le altre diluizioni.

I valori di tutte le altre diluizioni vengono calcolati nel modo seguente:
Valore determinato del **TriniCAL Fibrinogen** (mg/dl) x fattore di diluizione = fibrinogeno (mg/dl)

I dati per la curva di calibrazione del fibrinogeno vengono messi in grafico sulla carta per grafici fornita o su carta per grafici log-log a due decadi, con la concentrazione del fibrinogeno (mg/dl) sull'ascissa e il tempo di coagulazione (secondi) sull'ordinata. La curva che unisce i punti è generalmente curvilinea.

METODO KC 4:
Curva di calibrazione ed analisi del plasma del paziente:
1. Ricostituire il reagente trombina e riscaldare a temperatura ambiente (18–26°C).
2. Mettere le cuvette in un porta cuvette posto nell'area di preparazione non riscaldata.
3. Inserire una sfera in ogni cuvetta.
4. Pipettare 0,1 ml (100 µl) di campione diluito in ogni cuvetta.
5. Chiudere il coperchio, rimuovere il porta cuvette dall'area di preparazione e mescolare gentilmente 4–5 volte. Trasferire il porta cuvette nell'area di incubazione riscaldata o nei canali di lettura.
6. Incubare per 1–3 minuti.
7. Mettere il porta cuvette nei canali di lettura. Aprire il coperchio.
8. Pipettare 0,05 ml (50 µl) di reagente trombina in ogni cuvetta.
9. Registrare i risultati del tempo di coagulazione in secondi.
10. Estrapolare la concentrazione dalla curva di calibrazione.

METODO DEL FIBROMETER BBL:
Curva di calibrazione ed analisi del plasma del paziente:
1. Ricostituire il reagente trombina e mantenere a temperatura ambiente (18–26°C) durante l'analisi.
2. Pipettare 0,2 ml (200 µl) di campione diluito nell'cuvetta del Fibrometer.
3. Incubare per 1–3 minuti a 37°C (non più di 5 minuti).
4. Dopo l'incubazione, pipettare rapidamente 0,1 ml (100 µl) di reagente trombina nella cuvetta del Fibrometer e simultaneamente avviare il contasecondi.
5. Registrare i risultati del tempo di coagulazione in secondi.
6. Estrapolare la concentrazione dalla curva di calibrazione.

Gli elettrodi devono essere lavati ed asciugati completamente tra una analisi e l'altra per evitare che proteine plasmatiche attivate possano rimanere adese agli elettrodi stessi. Per una pulizia accurata, sondagli elettrodi del Fibrometer devono essere immersi in acqua ed asciugati COMPLETAMENTE dopo ogni determinazione. Un'asciugatura per tamponamento non è sufficiente.

CONTROLLO QUALITÀ
L'affidabilità dei risultati dei test deve essere monitorata con l'uso di materiali di controllo normali e anormali durante ciascuna analisi. I seguenti prodotti sono appropriati a tale scopo: TriniCHECK Control 1 o TriniCHECK Level 1 e TriniCHECK Fibrinogen Low Control. Stabilire un intervallo di controllo valido per il laboratorio al fine di determinare la variazione consentita nelle prestazioni quotidiane per ciascun livello di controllo. Il programma Reliant C di **Trinity Biotech** può essere usato anche per monitorare le presationi dell'analisi. I risultati del controllo che non rientrano nei limiti superiore e inferiore degli intervalli stabiliti indicano la possibilità che l'analisi sia fuori controllo. Il mancato rispetto delle specifiche del controllo della qualità deve essere controllato e risolto. Se non è possibile risolvere i problemi, contattare il Servizio tecnico della **Trinity Biotech.**

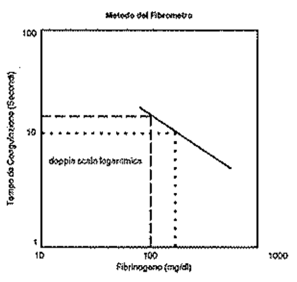
RISULTATI

Usare la curva di calibrazione per leggere i valori dell'analisi del fibrinogeno nel modo seguente:
Determinare il punto in cui il tempo di coagulazione per la diluizione 1:10 del campione di plasma diluito (ordinata) intercetta la curva di calibrazione. Leggere il valore corrispondente di fibrinogeno in mg/dl (ascisse).

Se il tempo di coagulazione della diluizione 1:10 del plasma all'analisi eccede il tempo di coagulazione dell'ultimo punto di diluizione sulla curva di calibrazione, preparare una diluizione 1:5 del plasma all'analisi e ripetere il test. La concentrazione di fibrinogeno risultante, in mg/dl, deve essere moltiplicata per il fattore di diluizione di 0,5 per ottenere la corretta concentrazione di fibrinogeno, in mg/dl, del campione all'analisi. Se il tempo di coagulazione della diluizione 1:10 del plasma all'analisi è più breve del tempo di coagulazione dell'ultimo punto di diluizione sulla curva di calibrazione, preparare una diluizione 1:20 del plasma all'analisi e ripetere il test. La concentrazione di fibrinogeno risultante, in mg/dl, deve essere moltiplicata per il fattore di diluizione di 2 per ottenere la corretta concentrazione di fibrinogeno, in mg/dl, del campione all'analisi. Se vengono analizzate altre diluizioni, il valore ottenuto deve essere moltiplicato per il fattore di diluizione appropriato.

Una tipica curva standard utilizzando il Fibrometer viene mostrata nella Figura 1. Una diluizione 1:10 del plasma all'esame ha prodotto un tempo di coagulazione di 12,2 secondi. La concentrazione di fibrinogeno letta dalla curva di calibrazione è di 200 mg/dl (2,0 g/L), come mostrato dalla linea punteggiata. Una diluizione 1:20 dello stesso plasma ha prodotto un tempo di coagulazione di 21,0 secondi (Figura 1). La concentrazione di fibrinogeno letta dalla curva è di 100 mg/dl (1,0 g/L). Questo valore è moltiplicato per il fattore di diluizione di 2, dando un valore di fibrinogeno di 200 mg/dl (2,0 g/L).

Figura 1



NOTA: la tipica curva di calibrazione mostrata nella figura non può essere utilizzata per ricavare risultati di laboratorio. Ogni laboratorio deve preparare una curva di calibrazione.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI
La diluizione di analisi minima raccomandata per l'esame è 1:3. Plasma non diluito non può essere usato perché sostanze interferenti e inibitori possono influenzare l'accuratezza dei risultati.

Il tempo di misura più corto per la strumentazione KC 1/KC 4 è di circa 4,5 secondi. Quando si ottiene un tempo di coagulazione di 4,5 secondi, bisogna rianalizzare il campione ad una differente diluizione.

I risultati non sono particolarmente influenzati da livelli tipici di eparina terapeutica (fino a 3,0 USP U/ml) come è stato mostrato in pazienti sottoposti ad anticoagulanti. È stato riportato che i prodotti di degradazione della fibrina (FDP) possono inibire l'azione della

ινωδογόνο σε ινώδες. Η εκτίμηση της συγκέντρωσης βάσει του βάρους του σχηματισμένου θρόμβου ινώδους ή της περιεκτικότητάς του σε πρωτεΐνη ενδέχεται να συνεπάγεται σημαντικά σφάλματα, λόγω της παρουσίας αναστολέων, που παρεμποδίζουν σε σημαντικό ή απόλυτο βαθμό το σχηματισμό θρόμβων. Η πλασμίνη μπορεί επίσης να προκαλέσει σημαντικού βαθμού λύση του σχηματισμένου θρόμβου πριν ολοκληρωθεί ο τελικός προσδιορισμός ινωδογόνου. Επίσης, έχουν περιγραφεί εναλλακτικές διαδικασίες βάσει της καθίζησης θειικού αμμωνίου,[5,6] αλλά δεν υπάρχει συσχέτιση με το χρονικό διάστημα πήξης της θρομβίνης κατά το οποίο τα επίπεδα ινωδογόνου είναι κάτω από 100 mg/dl (1,0 g/L).[7]

Ο προσδιορισμός της βιολογικής δραστηριότητας (π.χ. πηκτικότητα) είναι χρησιμότερος για τη διάγνωση σε σχέση με την ποσότητα κυκλοφορούντος ινωδογόνου. Η μέθοδος Clauss[8] μετρά το ρυθμό μετατροπής του ινωδογόνου σε ινώδες παρουσία πλεονάσματος θρομβίνης και έχει αποδειχθεί ότι είναι ταχεία, ευαίσθητη και ακριβής.[9,10] Η διαδικασία που περιγράφεται παρακάτω βασίζεται στη μέθοδο Clauss.

Κατά την πήξη του αραιωμένου πλάσματος με πλεόνασμα θρομβίνης, το επίπεδο ινωδογόνου είναι αντιστρόφως ανάλογο με το χρόνο πήξης, με αποτέλεσμα να προκύπτει μια καμπυλόγραμμη σχέση σε διάγραμμα log–log. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης ινωδογόνου στο δείγμα εξέτασης, χρησιμοποιείται μια καμπύλη βαθμονόμησης που σχηματίζεται βάσει μιας τιμής αναφοράς ινωδογόνου.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΉΡΙΟ

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

ΠΕΡΙΓΡΑΦΉ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΊΟΥ
TriniCAL Fibrinogen, 2 x 1 ml, catalogue no. T5104A
Λυοφιλοποιημένο ανθρώπινο πλάσμα επεξεργασμένο με κιτρικό άλας, που περιέχει ρυθμιστικό διάλυμα και συντηρητικό. Η τιμή ινωδογόνου που αναγράφεται στην ετικέτα προσδιορίζεται με τη μέθοδο Clauss αι μπορεί να ανιχνευτεί με βάση το Δευτερεύον Πρότυπο Πήξης ISTH.
TriniCLOT Fibrinogen 6 ml, reagent, 3 x 6 ml, catalogue no. T1302A
Λυοφιλοποιημένο παρασκεύασμα που περιέχει βόεια θρομβίνη, περίπου 75 NIH U/ml, ρυθμιστικό διάλυμα, σταθεροποιητές και συντηρητικό.
TriniCLOT Imidazole Buffer, 2 x 20 ml, catalogue no. T1901A
Ιμιδαζόλη, 30 mmol/L και χλωριούχο νάτριο, 125 mmol/L. Αζίδιο του νατρίου, 0,1%, ως συντηρητικό. pH 7,35.

ΠΑΡΑΣΚΕΥΉ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΊΟΥ
Εκτελέστε ανασύσταση του TriniCAL Fibrinogen με 1,0 ml αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό. Σφραγίστε ξανά το φιαλίδιο με πώμα και αφήστε το ακίνητο μέχρι να ολοκληρωθεί η διάλυση. Αναστρέψτε το προσεκτικά για να αναμιχθεί. ΜΗΝ ΤΟ ΑΝΑΚΙΝΕΙΤΕ.

Εκτελέστε ανασύσταση του αντιδραστηρίου θρομβίνης με 6,0 ml αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό. Σφραγίστε ξανά το φιαλίδιο με πώμα και αφήστε το ακίνητο μέχρι να ολοκληρωθεί η διάλυση. Αναστρέφετέ το περιοδικά. ΜΗΝ ΤΟ ΑΝΑΚΙΝΕΙΤΕ.

Το ρυθμιστικό διάλυμα ιμιδαζόλης διατίθεται σε υγρή μορφή και δεν χρειάζεται προετοιμασία πριν από τη χρήση.

ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ:
1. Μη χρησιμοποιείτε αποσταγμένο νερό που περιέχει συντηρητικά.
2. Αν το αντιδραστήριο θρομβίνης αφαιρεθεί από το αρχικό φιαλίδιο κατά τη διάρκεια της εξέτασης ή της αποθήκευσης σε συνθήκες ψύξης, πρέπει να μεταφερθεί μόνο σε δοχεία από πολυπροπυλένιο ή γυαλί με σιλικόνη.

ΠΡΌΣΘΕΤΑ ΑΠΑΙΤΟΎΜΕΝΑ ΥΛΙΚΆ
Υλικό ορού ελέγχου
Αναλυτής πήξης

ΔΙΑΘΈΣΙΜΑ ΥΛΙΚΆ
TriniCHECK Control I ή TriniCHECK Level I
TriniCHECK Fibrinogen Low Control
Αναλυτής πήξης

ΌΡΓΑΝΑ
Οι εφαρμογές/τροποποιημένες μέθοδοι για μεμονωμένους αναλυτές διατίθενται κατόπιν αίτησης. Για πληροφορίες, απευθυνθείτε σε έναν αντιπρόσωπο της περιοχής σας.

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Αποθηκεύετε τα αντιδραστήρια του κιτ ινωδογόνου σε ψυγείο (2–8°C). Στις ετικέτες των αντιδραστηρίων αναγράφεται η ημερομηνία λήξης. Το ανασυσταμένο **TriniCAL Fibrinogen** είναι σταθερό για 24 ώρες όταν αποθηκεύεται στους 2–8°C. Το ανασυσταμένο αντιδραστήριο θρομβίνης είναι σταθερό για 12 ημέρες στους 2–8°C ή για 3 ημέρες σε θερμοκρασία δωματίου (18–26°C).

ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Συνιστάται η συλλογή και φύλαξη των δειγμάτων να πραγματοποιούνται σύμφωνα με το έγγραφο H21-A5 του Ινστιτούτου Κλινικών και Εργαστηριακών Προτύπων (CLSI).[11] Δεν υπάρχει γνωστή μέθοδος εξέτασης που να εγγυάται απόλυτα τη μη μετάδοση μόλυνσης μέσω δειγμάτων ανθρώπινου αίματος. Επομένως, όλα τα παράγωγα αίματος πρέπει να θεωρούνται εν δυνάμει μολυσματικά. Το φλεβικό αίμα συλλέγεται σε σωληνάριο με κιτρικό νάτριο 3,2% σε αναλογία 9 μέρη αίμα προς 1 μέρος αντιπηκτικό (αναλογία 1:10). Η αναλογία είναι καίριας σημασίας. Το ποσοστό 3,2% κιτρικού νατρίου συστήνεται από το Ινστιτούτο Κλινικών και Εργαστηριακών Προτύπων (CLSI) και τον Π.Ο.Υ. Αν χρησιμοποιείτε σωληνάρια κενού που διατίθενται στο εμπόριο, πρέπει να διασφαλίσετε πλήρη αιμοληψία. Πρέπει να αποφεύγεται η πρόκληση τραύματος ή η διακοπή κατά τη διάρκεια της αιμοληψίας. Η συλλογή αίματος δεν θα πρέπει να πραγματοποιείται μέσω ενδοσωματικού μηχανισμού χορήγησης ηπαρίνης ή άλλης ηπαρηνισμένης γραμμής πρόσβασης. Η παρουσία θρόμβου σε δείγμα συνιστά αιτία απόρριψης του δείγματος. Μετά τη συλλογή του δείγματος, ανακινήστε το σωληνάριο καλά με ελαφριά αναστροφή αντίθετα προς το πώμα. Για τη λήψη δείγματος πλάσματος φυγοκεντρίστε στα 1500 x g για τουλάχιστον 15 λεπτά.

Μεταφέρετε το πλάσμα σε πλαστικό σωληνάριο, εκτός αν πρόκειται να επεξεργαστείτε τα δείγματα αμέσως. Φυλάξτε τα δείγματα πλάσματος σε ψυγείο (2–8°C) ή σε θερμοκρασία δωματίου (18–25°C) και εκτελέστε τη δοκιμασία εντός 4 ωρών. Αν η δοκιμασία δεν έχει ολοκληρωθεί εντός 4 ωρών, καταψύξτε το δείγμα στους –70°C για διάστημα έως και έξι μηνών. Τα κατεψυγμένα δείγματα πλάσματος πρέπει να αποψύχονται γρήγορα στους 37°C αναμειγνύοντας

5. Κλείστε το καπάκι, αφαιρέστε τον υποδοχέα από την περιοχή προετοιμασίας και ανακατέψτε ελαφρώς 4–5 φορές. Μεταφέρετε τον υποδοχέα στη θερμαινόμενη περιοχή επώασης ή στις περιστρεφόμενες θέσεις εξέτασης.
6. Επωάστε για 1–3 λεπτά.
7. Τοποθετήστε τον υποδοχέα στις περιστρεφόμενες θέσεις εξέτασης. Ανοίξτε το καπάκι.
8. Προσθέστε 0,05 ml (50 µl) αντιδραστηρίου θρομβίνης σε κάθε κυψελίδα.
9. Καταγράψτε τα αποτελέσματα χρόνου πήξης σε δευτερόλεπτα.
10. Υπολογίστε τη συγκέντρωση από την καμπύλη βαθμονόμησης.

ΜΕΘΟΔΟΣ BBL FIBROMETER:
Καμπύλη βαθμονόμησης και πλάσμα εξέτασης ασθενή:
1. Εκτελέστε ανασύσταση του αντιδραστηρίου θρομβίνης και διατηρήστε το σε θερμοκρασία δωματίου (18–26°C) κατά τη διάρκεια της εξέτασης.
2. Προσθέστε στο σωληνάριο Fibrometer 0,2 ml (200 µl) αραιωμένου δείγματος πλάσματος.
3. Επωάστε για 1–3 λεπτά στους 37°C (μην υπερβαίνετε τα 5 λεπτά).
4. Μετά την επώαση, προσθέστε άμεσα 0,1 ml (100 µl) αντιδραστηρίου θρομβίνης στο σωληνάριο Fibrometer και ταυτόχρονα ενεργοποιήστε το χρονόμετρο.
5. Καταγράψτε τα αποτελέσματα χρόνου πήξης σε δευτερόλεπτα.
6. Υπολογίστε τη συγκέντρωση από την καμπύλη βαθμονόμησης.

Μεταξύ των εξετάσεων πρέπει να πλένετε και να στεγνώνετε τους ιχνηθέτες, ώστε να αποτραπεί η μεταφορά ενεργοποιημένων πρωτεϊνών πλάσματος. Για αποτελεσματικό καθαρισμό, πρέπει να εμβυθίζετε τους ιχνηθέτες Fibrometer σε νερό και να τους σκουπίζετε ΚΑΛΑ μετά από κάθε διαδικασία προσδιορισμού. Το απλό στέγνωμα δεν επαρκεί.

ΠΟΙΟΤΙΚΌΣ ΈΛΕΓΧΟΣ
Η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων της εξέτασης πρέπει να παρακολουθείται με φυσιολογικά και μη φυσιολογικά υλικά ελέγχου σε κάθε ανάλυση. Οι οροί TriniCHECK Control 1 ή TriniCHECK Level 1 και TriniCHECK Fibrinogen Low Control είναι κατάλληλοι για το σκοπό αυτό. Το εργαστήριο θα πρέπει να ορίσει ένα εύρος ελέγχου για τον καθορισμό των επιτρεπτών διακυμάνσεων κατά την καθημερινή λειτουργία για κάθε επίπεδο ελέγχου. Για την παρακολούθηση της απόδοσης της ανάλυσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί επίσης το πρόγραμμα **Trinity Biotech** Reliant C. Τα αποτελέσματα ελέγχου που βρίσκονται εκτός των ανώτατων ή κατώτατων ορίων του καθορισμένου εύρους υποδεικνύουν ότι η ανάλυση ενδέχεται να βρίσκεται εκτός ελέγχου. Τα προβλήματα στην τήρηση των προδιαγραφών ποιοτικού ελέγχου θα πρέπει να διερευνώνται και να επιλύονται. Αν δεν είναι δυνατή η επίλυση των προβλημάτων, επικοινωνήστε με την τεχνική υπηρεσία της **Trinity Biotech.**

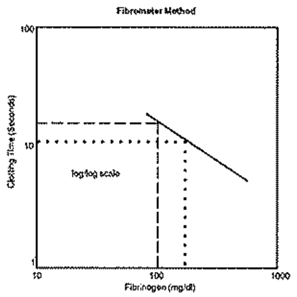
ΑΠΟΤΕΛΈΣΜΑΤΑ

Χρησιμοποιήστε την καμπύλη βαθμονόμησης για να καταγράψετε τις τιμές εξέτασης ινωδογόνου, όπως περιγράφεται παρακάτω:
Καθορίστε το σημείο της καμπύλης βαθμονόμησης που αντιστοιχεί στο χρόνο πήξης για την αραίωση 1:10 του πλάσματος εξέτασης (άξονας y). Καταγράψτε την αντίστοιχη τιμή ινωδογόνου σε mg/dl (άξονας x).

Αν ο χρόνος πήξης της αραίωσης 1:10 του πλάσματος εξέτασης υπερβαίνει το χρόνο πήξης του τελευταίου σημείου αραίωσης στην καμπύλη βαθμονόμησης, εκτελέστε μια αραίωση 1:5 του πλάσματος εξέτασης και επαναλάβετε την ανάλυση. Η συγκέντρωση ινωδογόνου σε mg/dl που προκύπτει, θα πρέπει να πολλαπλασιαστεί με το συντελεστή αραίωσης 0,5, ώστε να προκύψει η σωστή συγκέντρωση ινωδογόνου σε mg/dl για το δείγμα εξέτασης. Αν ο χρόνος πήξης της αραίωσης 1:10 του πλάσματος εξέτασης είναι μικρότερος από το χρόνο πήξης του τελευταίου σημείου αραίωσης στην καμπύλη βαθμονόμησης, εκτελέστε μια αραίωση 1:20 του πλάσματος εξέτασης και επαναλάβετε την ανάλυση. Η συγκέντρωση ινωδογόνου σε mg/dl που προκύπτει, θα πρέπει να πολλαπλασιαστεί με το συντελεστή αραίωσης 2, ώστε να προκύψει η σωστή συγκέντρωση ινωδογόνου σε mg/dl για το δείγμα εξέτασης. Κατά την εξέταση άλλων αραιώσεων, η τιμή που προκύπτει πρέπει να πολλαπλασιάζεται με τον κατάλληλο συντελεστή αραίωσης.

Στην Εικόνα 1 φαίνεται μια τυπική καμπύλη που προκύπτει όταν χρησιμοποιείται το Fibrometer. Με μια αραίωση πλάσματος εξέτασης 1:10 προέκυψε χρόνος πήξης 12,2 δευτερολέπτων. Η ένδειξη συγκέντρωσης ινωδογόνου από την καμπύλη βαθμονόμησης είναι 200 mg/dl (2,0 g/L), όπως φαίνεται από τις διακεκομμένες γραμμές. Με μια αραίωση του ίδιου πλάσματος 1:20 προκύπτει χρόνος πήξης 21,0 δευτερολέπτων (Εικόνα 1). Η ένδειξη συγκέντρωσης ινωδογόνου από την καμπύλη είναι 100 mg/dl (1,0 g/L). Η τιμή αυτή πολλαπλασιάζεται με το συντελεστή αραίωσης 2 και προκύπτει η τιμή ινωδογόνου 200 mg/dl (2,0 g/L).

Εικόνα 1



ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Η τυπική καμπύλη βαθμονόμησης που εμφανίζεται παραπάνω δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εξαγωγή εργαστηριακών αποτελεσμάτων. Κάθε εργαστήριο πρέπει να καθορίσει μια καμπύλη βαθμονόμησης.

ΕΡΜΗΝΕΊΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΆΤΩΝ
Η χαμηλότερη συνιστώμενη αραίωση εξέτασης είναι 1:3. Δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν μη αραιωμένα δείγματα πλάσματος, καθώς οι παρεμβαλλόμενες ουσίες και οι αναστολείς ενδέχεται να επηρεάσουν την ακρίβεια των αποτελεσμάτων.

Ο μικρότερος χρόνος μέτρησης για τα όργανα KC 1/KC 4 είναι περίπου 4,5 δευτερόλεπτα. Αν προκύψει χρόνος πήξης 4,5 δευτερολέπτων, εκτελέστε ξανά ανάλυση του δείγματος με διαφορετική αραίωση.

Τα αποτελέσματα δεν επηρεάζονται σημαντικά από τα συνήθη θεραπευτικά

do miocárdio e de AVC.[3,4] Devido à crescente importância que tem a avaliação dos níveis de fibrinogénio, é necessário um procedimento que seja sensível e fiável.

A maioria dos métodos de determinação da concentração de fibrinogénio baseia-se no pressuposto de que a trombina irá converter quantitativamente o fibrinogénio em fibrina. O cálculo da concentração que se baseia no peso ou no teor proteico do coágulo de fibrina formado pode estar sujeito a grandes erros, devido à presença de inibidores que fazem com que se forme pouco ou nenhum coágulo. A plasmina também pode produzir uma lise significativa do coágulo formado antes de ser possível concluir a determinação final do fibrinogénio. Foram descritos procedimentos alternativos baseados na precipitação do sulfato de amónia,[5,6] mas que não estão correlacionados com os tempos de coagulação da trombina quando os níveis de fibrinogénio são inferiores a 100 mg/dl (1,0 g/L).[7]

A determinação da actividade biológica (i.e. coaguabilidade) é mais útil no diagnóstico do que a quantidade de fibrinogénio circulante. O método de Clauss[8] mede a taxa de conversão de fibrinogénio em fibrina na presença de excesso de trombina, e tem demonstrado ser rápido, sensível e preciso.[9,10] O procedimento aqui descrito baseia-se no método de Clauss.

Quando diluído, o plasma coagula com o excesso de trombina, e o nível de fibrinogénio é inversamente proporcional ao tempo de coagulação, produzindo um relação curvilínea quando traçado em papel bilogarítmico. Para determinar a concentração de fibrinogénio existente na amostra de teste é utilizada uma curva de calibração preparada a partir de uma referência de fibrinogénio.

REAGENTE

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

DESCRIÇÃO DO REAGENTE
TriniCAL Fibrinogen, 2 x 1 ml, catalogue no. T5104A
Plasma humano citratado liofilizado, contendo tampão e conservante. O valor de fibrinogénio indicado na etiqueta é determinado pelo método de Clauss e é rastreável em relação ao Padrão de Coagulação Secundária do ISTH.
TriniCLOT Fibrinogen, reagent, 3 x 6 ml, catalogue no. T1302A
Preparação liofilizada, contendo trombina bovina, aproximadamente 75 NIH U/ml, tampão, estabilizadores e conservante.
TriniCLOT Imidazole Buffer, 2 x 20 ml, catalogue no. T1901A
Imidazol, 30 mmol/L, e cloreto de sódio, 125 mmol/L. Azida sódica, 0,1% adicionada como conservante. pH 7,35.

PREPARAÇÃO DO REAGENTE
Reconstitua o Fibrinogénio TriniCAL com 1,0 ml de água destilada ou desionizada. Tape novamente o frasco e deixe repousar até a dissolução ser completa. Inverta suavemente para homogeneizar. NÃO AGITE.

Reconstitua o Reagente de Trombina com 6,0 ml de água destilada ou desionizada. Tape novamente o frasco e deixe repousar até a dissolução ser completa. Inverta periodicamente. NÃO AGITE.

O Tampão Imidazol é fornecido sob a forma de líquido e não requer qualquer preparação antes de ser utilizado.

NOTAS:
1. Não utilize água destilada que contenha conservantes.
2. Se o Reagente de Trombina for removido do frasco original durante o teste ou armazenamento refrigerado, deverá ser colocado apenas em recipientes de polipropileno ou de vidro siliconizado.

MATERIAIS ADICIONAIS NECESSARIOS
Material de controlo
Analisador de coagulação

MATERIAIS DISPONÍVEIS
TriniCHECK Control I ou TriniCHECK Level I
TriniCHECK Fibrinogen Low Control
Analisador de coagulação

INSTRUMENTOS
A pedido, estão disponíveis aplicações/adaptações de método para analisadores individuais; contacte o seu representante local.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Armazene os reagentes do kit de Fibrinogénio no frigorífico (2-8°C). A data de validade vem indicada nos rótulos do reagente. O **TriniCAL Fibrinogen** reconstituído permanece estável durante 24 horas quando armazenado a 2-8°C. O Reagente de Trombina Reconstituído permanece estável durante 12 dias a 2-8°C, ou durante 3 dias à temperatura ambiente (18-26°C).

RECOLHA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

Recomenda-se que a colheita e o armazenamento das amostras sejam realizados de acordo com o documento CLSI H21-A5.[11] Nenhum método de teste pode assegurar com toda a certeza a inexistência de agentes infecciosos nas amostras de sangue humano. Por isso, todo o material hemoderivado deve ser considerado como potencialmente infeccioso. O sangue venoso é colhido em citrato de sódio a 3,2%, numa proporção de 9 partes de sangue para 1 parte de anticoagulante (proporção de 1:10). Esta proporção é crucial. O citrato de sódio a 3,2% é recomendado pelo CLSI e pela OMS. Se forem utilizados tubos de vácuo disponíveis no mercado, tem de ser assegurada uma colheita completa. Deverá evitar-se a ocorrência de trauma ou de estase durante a colheita. O sangue não deve ser colhido através de cateter heparinizado ou outro acesso heparinizado. A presença de um coágulo numa amostra é motivo para a sua rejeição. Homogeneíze bem o tubo invertendo suavemente contra a tampa, após a colheita. Para obter uma amostra de plasma, centrifugue a 1500 x g durante um mínimo de 15 minutos.

Se as amostras não forem processadas de imediato, transfira o plasma para um tubo de ensaio de plástico. Armazene as amostras de plasma refrigeradas (2–8°C) ou à temperatura ambiente (18–25°C) e analise-as no prazo de 4 horas. Se a análise não for realizada no prazo de 4 horas, congele a amostra a –70°C durante um máximo de seis meses. As amostras congeladas devem ser descongeladas rapidamente a 37°C ao mesmo tempo que são homogeneizadas suavemente, e devem ser analisadas de imediato. Se a análise não puder ser realizada de imediato, a amostra poderá ser mantida durante um máximo de 2 horas a 4°C, até a análise ser realizada. O APTT pode ficar afectado em algumas amostras que tenham sido congeladas.

PROCEDIMENTO

ANÁLISE DO PACIENTE:
Os plasmas de teste dos pacientes são preparados diluindo plasma a 1:10 com Tampão Imidazol, em tubos de plástico. Conserve as diluições entre 2 e 8°C.

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

Il tempo di misura più corto per la strumentazione KC 1/KC 4 è di circa 4,5 secondi. Quando si ottiene un tempo di coagulazione di 4,5 secondi, bisogna rianalizzare il campione ad una differente diluizione.

I risultati non sono particolarmente influenzati da livelli tipici di eparina terapeutica (fino a 3,0 USP U/ml) come è stato mostrato in pazienti sottoposti ad anticoagulanti. È stato riportato che i prodotti di degradazione della fibrina (FDP) possono inibire l'azione della trombina sul fibrinogeno e la polimerizzazione della fibrina stessa. FDP ha un effetto minimo sull'analisi del fibrinogeno a livelli normali di fibrinogeno. A concentrazioni di fibrinogeno inferiori 150 mg/dl (1,5 g/L), FDP, a concentrazioni maggiori di 100 µg/ml può inibire il test di Clauss.[1]

RISULTATI PREVISTI

I valori normali di fibrinogeno nel plasma umano vanno generalmente da 175 a 400 mg/dl (1,75-4,00 g/L).[12] Tuttavia, a causa della diversità delle procedure di analisi nei vari laboratori, ogni laboratorio deve stabilire il suo proprio valore medio e il suo campo di valori normali (valore medio ± 2 DS).

Le condizioni riportate di seguito sono state associate a bassi livelli di fibrinogeno: malattie epatiche, traumatiche ed infettive, coagulazione acuta consuntiva, fibrinolisi, embolia polmonare acuta, disfibrinogemia ereditaria, morsi di particolari serpenti velenosi. I valori di fibrinogeno sono aumentati in condizioni che coinvolgono necrosi estensiva del tessuto, che possono svilupparsi a seguito di malattie maligne o durante aggressive chemioterapie con severe risposte infiammatorie. Livelli elevati di fibrinogeno possono essere presenti in malattie renali quando altri fattori di coagulazione sono severamente depressi.[13]

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

LIMITI DI MISURA:

Con questa procedura è possibile determinare direttamente concentrazioni di fibrinogeno nel campo di 100-500 mg/dl (1,0–5,0 g/L). Se i campioni di plasma vengono diluiti nuovamente, si possono determinare concentrazioni di fibrinogeno pari a 50–1000 mg/dl (0,5–10,0 g/L).

STUDI DI CORRELAZIONE:

La procedura descritta correla bene con un altro prodotto commerciale disponibile che si basa sul metodo di Clauss. Centodue campioni con concentrazioni di fibrinogeno da 95 a 764 mg/dl (0,95–7,64 g/L) sono stati analizzati con il reagente descritto (y) e con un altro reagente (x) utilizzando il Fibrometer. Il confronto dei risultati fornisce un coefficente di correlazione di 0,96 ad una equazione di regressione pari a $y = 0{,}91x + 28{,}3$.

PRECISIONE.

La precisione è stata determinata col Fibrometer secondo la pubblicazione CLSI publication EP5-T2[14] usando plasma contenente tre livelli di fibrinogeno.

I dati ottenuti sono i seguenti (n = 40):

	Livello di fibrinogeno	Basso	Medio	Alto
	Valore medio, mg/dl	166,4	267,2	497,1
Intra-Run	SD	6,8	10,0	22,5
	CV(%)	4,1	3,7	4,5
Totale	SD	6,7	10,7	29,8
	CV(%)	4,0	4,0	6,0

Trinity Biotech

TriniCLOT™ Fibrinogen Kit

REF T1301

TriniCLOT™ Fibrinogen

REF T1302 10 x 6 ml

TriniCAL™ Fibrinogen

REF T5104 10 x 1 ml

ΕΛΛΗΝΙΚΑ

ΧΡΉΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΊΑ ΠΡΟΟΡΊΖΕΤΑΙ

Το κιτ **TriniCLOT Fibrinogen** προορίζεται για τον ποσοτικό προσδιορισμό του ινωδογόνου στο πλάσμα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΑΡΧΗ

Το ινωδογόνο είναι η πρόδρομη πρωτεΐνη του ινώδους στο πλάσμα, το οποίο σε περίπτωση διασταύρωσης μετατρέπεται στο κύριο συστατικό των θρόμβων ινώδους. Η θρομβίνη διασπά το ινωδογόνο και σχηματίζει ένα μονομερές ινώδους. Τα μονομερή του ινώδους συσσωματώνονται και σχηματίζουν τα αδιάλυτα πολυμερή ινώδους. Σε ορισμένες παθήσεις, όπως συγγενής ανινωδογοναιμία, υποϊνωδογοναιμία και σε ορισμένες περιπτώσεις δυσινωδογοναιμίας, ενδέχεται να υπάρχει ανεπάρκεια ινωδογόνου. Η τιμή ινωδογόνου ενδέχεται επίσης να είναι χαμηλή σε διάφορες παθήσεις, όπως διάχυτη ενδαγγειακή πήξη, συστημική ινωδόλυση, παγκρεατίτιδα και οξεία ηπατική δυσλειτουργία. Το ινωδογόνο είναι μια πρωτεΐνη οξείας φάσης, η συγκέντρωση της οποίας αυξάνεται ως ανταπόκριση σε διάφορα φυσιολογικά ερεθίσματα. Μπορεί να αυξηθεί ως ανταπόκριση σε φλεγμονώδεις συνθήκες, σε περίπτωση λοιμώξεων, κατά την κύηση και μετά από τραύμα. Επίσης, εμφανίζεται αυξημένη στους καπνιστές.[1,2] Τα υψηλά επίπεδα ινωδογόνου στο πλάσμα έχουν συσχετιστεί με προθρομβωτικές καταστάσεις. Τα επίπεδα ινωδογόνου έχουν επίσης συσχετιστεί θετικά με την ανάπτυξη αθηροσκληρωτικής καρδιαγγειακής νόσου και με την πρόκληση εμφράγματος του μυοκαρδίου και εγκεφαλικών επεισοδίων.[3,4] Λόγω της ιδιαίτερης σημασίας που έχει η εκτίμηση των επιπέδων ινωδογόνου, απαιτείται η χρήση μιας αξιόπιστης διαδικασίας υψηλής ευαισθησίας.

Οι περισσότερες μέθοδοι προσδιορισμού της συγκέντρωσης ινωδογόνου βασίζονται στην υπόθεση ότι η θρομβίνη θα μετατρέψει ποσοτικά το

Μεταφέρετε το πλάσμα σε πλαστικό σωληνάριο, εκτός αν πρόκειται να επεξεργαστείτε τα δείγματα αμέσως. Φυλάξτε τα δείγματα πλάσματος σε ψυγείο (2–8°C) ή σε θερμοκρασία δωματίου (18–25°C) και εκτελέστε τη δοκιμασία εντός 4 ωρών. Αν η δοκιμασία δεν έχει ολοκληρωθεί εντός 4 ωρών, καταψύξτε το δείγμα στους -70°C για διάστημα έως και έξι μηνών. Τα κατεψυγμένα δείγματα πλάσματος πρέπει να αποψύχονται γρήγορα στους 37°C αναμειγνύοντας προσεκτικά και να υποβάλλονται αμέσως σε δοκιμασία. Αν δεν είναι δυνατή η άμεση εκτέλεση της δοκιμασίας, το δείγμα μπορεί να διατηρηθεί για διάστημα έως 2 ωρών στους 4°C έως ότου υποβληθεί σε δοκιμασία. Ο χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT) ενδέχεται να επηρεαστεί σε ορισμένα κατεψυγμένα δείγματα.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΊΑ

ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΣΘΕΝΗ

Τα δείγματα εξέτασης πλάσματος ασθενή παρασκευάζονται με αραίωση πλάσματος 1:10 με ρυθμιστικό διάλυμα ιμιδαζόλης σε πλαστικά σωληνάρια. Φυλάσσετε τις αραιώσεις σε θερμοκρασία 2–8°C.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΉΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΆΞΕΙΣ

Κατά το χειρισμό των εργαστηριακών αντιδραστηρίων πρέπει να λαμβάνονται οι συνήθεις προφυλάξεις. Κατά την απόρριψη των αποβλήτων πρέπει να τηρούνται όλοι οι κρατικοί και ομοσπονδιακοί νόμοι.

Το **TriniCAL Fibrinogen** είναι ένα ΕΝ ΔΥΝΑΜΕΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟ ΥΛΙΚΟ. Τα υλικά προέλευσης του παρόντος προϊόντος βρέθηκαν αρνητικά για HBsAg και για αντισώματα HCV, HIV–1 και HIV–2 κατόπιν εξέτασης με εγκεκριμένες μεθόδους. Ωστόσο, η απουσία μολυσματικών παραγόντων δεν μπορεί να διασφαλιστεί πλήρως με καμία μέθοδο εξέτασης και, επομένως, ο χειρισμός του προϊόντος αυτού πρέπει να πραγματοποιείται με τις ίδιες προφυλάξεις ασφαλείας που λαμβάνονται κατά το χειρισμό οποιουδήποτε εν δυνάμει μολυσματικού υλικού.

Το αντιδραστήριο θρομβίνης είναι ΕΠΙΒΛΑΒΕΣ. Επιβλαβές σε περίπτωση επαφής με το δέρμα και σε περίπτωση κατάποσης. Ερεθιστικό για τα μάτια, το αναπνευστικό σύστημα και το δέρμα. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική βοήθεια. Φοράτε κατάλληλη προστατευτική ενδυμασία.

Η έλλειψη κενού κατά το άνοιγμα των φιαλιδίων **TriniCAL Fibrinogen** ή αντιδραστηρίου θρομβίνης ή η αδυναμία λήψης αναπαραγώγιμων τιμών αποτελούν πιθανές ενδείξεις αλλοίωσης του προϊόντος.

Το ρυθμιστικό διάλυμα ιμιδαζόλης περιέχει αζίδιο του νατρίου, το οποίο είναι ΕΠΙΒΛΑΒΕΣ. Επιβλαβές σε περίπτωση επαφής με το δέρμα και σε περίπτωση κατάποσης. Κατά την επαφή με οξέα απελευθερώνεται ένα ιδιαίτερα τοξικό αέριο. Διατηρείτε το δοχείο σφιχτά κλειστό. Φοράτε κατάλληλη προστατευτική ενδυμασία και γάντια. ΕΝ ΔΥΝΑΜΕΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟ ΥΛΙΚΟ. Το αζίδιο του νατρίου μπορεί να αντιδράσει με το μόλυβδο και το χαλκό των σωληνώσεων και να δημιουργήσει αζίδια μετάλλου υψηλής εκρηκτικότητας. Αποφεύγετε τη συσσώρευση αζιδίου. Απορρίψτε το ρυθμιστικό διάλυμα ιμιδαζόλης αν υπάρχουν ενδείξεις ανάπτυξης μικροβίων

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Το κιτ ινωδογόνου μπορεί να χρησιμοποιηθεί με μηχανικές και φωτοοπτικές τεχνικές. Για τις οδηγίες και τους περιορισμούς της διαδικασίας, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο λειτουργίας του οργάνου ή στην ειδική εφαρμογή του οργάνου.
Εκτελείτε όλες τις εξετάσεις εις διπλούν διασφαλίζοντας ότι αναπαράγετε τη χρονική διάρκεια, τη θερμοκρασία, τις συνθήκες επώασης και την τεχνική για μεγαλύτερη ακρίβεια.

Όταν χρησιμοποιείτε τα όργανα KC 1™, KC 4™ ή Fibrometer®, παρασκευάστε αραιώσεις **TriniCAL Fibrinogen** με ρυθμιστικό διάλυμα ιμιδαζόλης και αποθηκεύστε τις σε συνθήκες ψύξης (2–8°C). Χρησιμοποιείτε πλαστικούς σωλήνες καθόλη τη διάρκεια της διαδικασίας. Αναμίξτε ελαφρώς το περιεχόμενο των σωλήνων.

Παρακάτω παρατίθενται παραδείγματα αραιώσεων:

Αραίωση	TriniCAL Fibrinogen (ml)	Ρυθμιστικό διάλυμα ιμιδαζόλης (ml)	Συντελεστής αραίωσης
1:5	0,5	2,0	2
1:10	0,5 σε αραίωση 1:5	0,5	1
1:15	0,4 σε αραίωση 1:5	0,8	0,66
1:20	0,2 σε αραίωση 1:5	0,9	0,5
1:25	0,2 σε αραίωση 1:5	0,8	0,4
1:30	0,2 σε αραίωση 1:5	1,0	0,33

Η αραίωση 1:10 του **TriniCAL Fibrinogen** καθορίζει την τιμή ανάλυσης που αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλιδίου και πρόκειται για την αραίωση στην οποία αναφέρονται όλες οι υπόλοιπες αραιώσεις. Ο συντελεστής αραίωσης υποδεικνύει τη σχέση μεταξύ της αραίωσης 1:10 και όλων των υπόλοιπων αραιώσεων.

Οι τιμές όλων των υπόλοιπων αραιώσεων υπολογίζονται ως εξής:
Τιμή ανάλυσης του **TriniCAL Fibrinogen** (mg/dl) x Συντελεστής αραίωσης = Ινωδογόνο, mg/dl.

Τα αποτελέσματα της καμπύλης βαθμονόμησης απεικονίζονται σε διαμορφωμένο χαρτί μιλιμετρέ ή χαρτί μιλιμετρέ log x log 2 κύκλων, με τη συγκέντρωση ινωδογόνου (mg/dl) στον άξονα x και το χρόνο πήξης (δευτερόλεπτα) στον άξονα y. Η καμπύλη που συνδέει τα σημεία είναι συνήθως καμπυλόγραμμη.

ΜΕΘΟΔΟΣ KC 4:

Καμπύλη βαθμονόμησης και πλάσμα εξέτασης ασθενή:

1. Εκτελέστε ανασύσταση του αντιδραστηρίου θρομβίνης και θερμάνετέ το σε θερμοκρασία δωματίου (18-26°C).
2. Τοποθετήστε τις κυψελίδες στον υποδοχέα που βρίσκεται στη μη θερμαινόμενη περιοχή προετοιμασίας.
3. Προσθέστε μία δόση σε κάθε κυψελίδα.
4. Διοχετεύστε με πιπέτα 0,1 ml (100 µl) αραίωσης δείγματος σε κάθε κυψελίδα.

ακρίβεια των αποτελεσμάτων.

Ο μικρότερος χρόνος μέτρησης για τα όργανα KC 1/KC 4 είναι περίπου 4,5 δευτερόλεπτα. Αν προκύψει χρόνος πήξης 4,5 δευτερολέπτων, εκτελέστε ξανά ανάλυση του δείγματος με διαφορετική αραίωση.

Τα αποτελέσματα δεν επηρεάζονται σημαντικά από τα συνήθη θεραπευτικά επίπεδα ηπαρίνης (έως 3,0 USP U/ml), όπως αποδείχθηκε σε ασθενείς που λαμβάνουν αντιπηκτική αγωγή. Έχει αναφερθεί ότι τα προϊόντα αποδόμησης του ινώδους (FDP) ενδέχεται να παρεμποδίσουν τη δράση της θρομβίνης στο ινωδογόνο και τον πολυμερισμό του ινώδους. Τα προϊόντα FDP επηρεάζουν ελάχιστα την ανάλυση ινωδογόνου σε φυσιολογικά επίπεδα ινωδογόνου. Σε συγκεντρώσεις ινωδογόνου μικρότερες από 150 mg/dl (1,5 g/L), οι ουσίες FDP σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 100 µg/ml ενδέχεται να έχουν αυξημένη ανασταλτική επίδραση στην ανάλυση Clauss.[1]

ΑΝΑΜΕΝΌΜΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΈΣΜΑΤΑ

Το φυσιολογικό εύρος για το επίπεδο ινωδογόνου στο ανθρώπινο πλάσμα θεωρείται γενικά ότι είναι 175-400 mg/dl (1,75-4,00 g/L).[12] Ωστόσο, λόγω των διαφορών στη διαδικασία μεταξύ εργαστηρίων, κάθε εργαστήριο πρέπει να ορίσει το δικό του μέσο και φυσιολογικό εύρος (μέσο εύρος ± 2 SD).

Οι παρακάτω παθήσεις έχουν συσχετιστεί με χαμηλά επίπεδα ινωδογόνου: ηπατική νόσος, τραυματική και μολυσματική οξεία διάχυτη ενδαγγειακή πήξη, ινωδόλυση, οξεία πνευμονική εμβολή, κληρονομική δυσινωδογοναιμία, ορισμένα δήγματα δηλητηριωδών φιδιών Οι τιμές ινωδογόνου είναι αυξημένες σε συνθήκες που περιλαμβάνουν εκτεταμένη νέκρωση ιστών, όπως σε περιπτώσεις ενεργών κακοηθειών ή επιθετικής χημειοθεραπείας καθώς και σε οξείες φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Σε περιπτώσεις νεφρικής νόσου ενδέχεται να παρατηρηθούν υψηλά επίπεδα ινωδογόνου όταν οι τιμές των υπόλοιπων παραγόντων πήξης είναι ιδιαίτερα χαμηλές.[13]

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΆ ΑΠΌΔΟΣΗΣ

ΟΡΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ:

Με την παρούσα διαδικασία μπορούν να ανιχνευτούν άμεσα συγκεντρώσεις ινωδογόνου εντός του εύρους 100-500 mg/dl (1,0-5,0 g/L). Μετά από εκ νέου αραίωση των δειγμάτων πλάσματος, μπορούν να ανιχνευτούν συγκεντρώσεις ινωδογόνου 50-1000 mg/dl (0,5-10,0 g/L).

ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΥ:

Έχει αποδειχθεί ότι υπάρχει καλός συσχετισμός μεταξύ της διαδικασίας που περιγράφεται και ενός άλλου προϊόντος που διατίθεται στο εμπόριο και βασίζεται στη μέθοδο Clauss. Στο Fibrometer εκτελέστηκε ανάλυση εκατόν δύο δειγμάτων με συγκεντρώσεις ινωδογόνου από 95 έως 764 mg/dl (0,95-7,64 g/L) με το αντιδραστήριο που περιγράφεται (y) και ένα καθιερωμένο αντιδραστήριο (x). Με τη σύγκριση των αποτελεσμάτων προέκυψε συντελεστής συσχετισμού 0,96 και εξίσωση παλινδρόμησης $y = 0{,}91x + 28{,}3$.

ΑΚΡΙΒΕΙΑ:

Η ακρίβεια καθορίστηκε στο Fibrometer σύμφωνα με την έκδοση CLSI EP5-T2[14] χρησιμοποιώντας πλάσμα με τρία επίπεδα ινωδογόνου.

Προέκυψαν τα παρακάτω δεδομένα (n = 40):

	Επίπεδο ινωδογόνου	Χαμηλό	Μεσαίο	Υψηλό
	Μέση τιμή, mg/dl	166,4	267,2	497,1
Εντός της ανάλυσης	SD	6,8	10,0	22,5
	CV(%)	4,1	3,7	4,5
Συνολική τιμή	SD	6,7	10,7	29,8
	CV(%)	4,0	4,0	6,0

Trinity Biotech

TriniCLOT™ Fibrinogen Kit

REF T1301

TriniCLOT™ Fibrinogen Kit

REF T1302 10 x 6 ml

TriniCAL™ Fibrinogen

REF T5104 10 x 1 ml

PORTUGUÊS

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O kit de **TriniCLOT Fibrinogen** destina-se à determinação quantitativa de fibrinogénio no plasma.

RESUMO E PRINCÍPIO

O fibrinogénio é o precursor das proteínas plasmáticas da fibrina que, quando é feita a ligação cruzada, se transforma no principal componente do coágulo de fibrina. A trombina cliva o fibrinogénio e forma um monómero de fibrina. Os monómeros de fibrina agregam-se e formam polímeros de fibrina insolúvel. Pode ocorrer deficiência de fibrinogénio em doenças como a afibrinogenemia congénita, a hipofibrinogenemia e em alguns casos de disfibrinogenemia. O respectivo valor também pode estar baixo em diversos estados patológicos, como a coagulação intravascular disseminada, a fibrinólise sistémica, a pancreatite e a disfunção hepática grave. O fibrinogénio é uma proteína reactiva da fase aguda, cuja concentração aumenta em resposta a vários estímulos fisiológicos diferentes. Pode aumentar em resposta a estados inflamatórios, em caso de infecção, durante a gravidez e a seguir a um traumatismo. Encontra-se elevada nos fumadores.[1,2] Os níveis elevados de fibrinogénio no plasma têm estado associados a estados pré-trombóticos. Os níveis de fibrinogénio também têm estado correlacionados positivamente com o desenvolvimento de doença cardiovascular aterosclerótica e com a ocorrência de enfarte

PROCEDIMENTO

ANÁLISE DO PACIENTE:

Os plasmas de teste dos pacientes são preparados diluindo plasma a 1:10 com Tampão Imidazol, em tubos de plástico. Conserve as diluições entre 2 e 8°C.

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

Devem ser seguidas as precauções normais a ter durante o manuseamento de reagentes laboratoriais. Elimine os resíduos de acordo com a legislação local, estatal e federal.

O **TriniCAL Fibrinogen** é um MATERIAL DE POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO. Os materiais de onde este produto foi derivado foram analisados, tendo-se determinado, através de métodos de análise aprovados, que eram negativos para o HBsAg e para os anticorpos contra o HCV, HIV-1 e HIV-2. No entanto, como nenhum método pode proporcionar garantia total de ausência de agentes infecciosos, este produto deve ser manuseado cumprindo as mesmas precauções de segurança que são utilizadas durante o manuseamento de qualquer material potencialmente infeccioso.

O Reagente de Trombina é NOCIVO. Nocivo quando em contacto com a pele e por ingestão. Irritante para os olhos, o sistema respiratório e a pele. Em caso de contacto com os olhos, lave imediata e abundantemente com água e consulte um especialista. Use vestuário de protecção adequado.

A ausência de vácuo após a abertura dos frascos de **TriniCAL Fibrinogen** ou de Reagente de Trombina ou a incapacidade de obter valores reproduzíveis podem ser sinais de deterioração do produto.

O Tampão Imidazol contém azida sódica, que é NOCIVA. Nocivo quando em contacto com a pele e por ingestão. O contacto com ácidos liberta um gás muito tóxico. Mantenha o recipiente hermeticamente fechado. Use vestuário de protecção e luvas adequados. MATERIAL DE POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO. A azida sódica pode reagir com os tubos de chumbo ou cobre e formar azidas de metal altamente explosivas. Evite a acumulação de azida. Elimine o Tampão Imidazol se existirem provas de desenvolvimento microbiano.

PROCEDIMENTO DE TESTE

O Kit de Fibrinogénio pode ser utilizado com técnicas mecânicas e foto-ópticas. Consulte o manual de funcionamento do analisador ou da aplicação específica do analisador para obter instruções e saber quais as limitações do procedimento.

Execute todos os testes em duplicado, tendo o cuidado de reproduzir os tempos, a temperatura, a incubação e a técnica, para assim obter o máximo de precisão.

Quando utilizar o KC 1™, KC 4™ ou Fibrometer®, prepare diluições de **TriniCAL Fibrinogen** com Tampão Imidazol e armazene as diluições no frigorífico (2–8°C). Utilize tubos de plástico em todo o procedimento. Homogeneíze os tubos cuidadosamente.

Seguem-se exemplos de diluições:

Diluição	TriniCAL Fibrinogen (ml)	Tampão Imidazol (ml)	Factor de Diluição
1:5	0,5	2,0	2
1:10	0,5 de diluição a 1:5	0,5	1
1:15	0,4 de diluição a 1:5	0,8	0,66
1:20	0,2 de diluição a 1:5	0,9	0,5
1:25	0,2 de diluição a 1:5	0,8	0,4
1:30	0,2 de diluição a 1:5	1,0	0,33

A diluição a 1:10 do **TriniCAL Fibrinogen** define o valor de ensaio referido no rótulo do frasco e é a diluição com a qual todas as outras diluições estão relacionadas. O factor de diluição indica a relação entre a diluição a 1:10 e todas as outras diluições.

Os valores de todas as outras diluições são calculados da seguinte forma:
Valor analisado de **TriniCAL Fibrinogen** (mg/dl) x Factor de Diluição = Fibrinogénio, mg/dl

Os resultados da curva de calibração do fibrinogénio são traçados em papel milimétrico fornecido ou em papel milimétrico log x log de 2 ciclos, com concentração de fibrinogénio (mg/dl) no eixo x e tempo de coagulação (segundos) no eixo y. Normalmente, a curva que liga estes pontos é curvilínea.

MÉTODO KC 4:

Curva de calibração e plasma do doente a testar:

1. Reconstitua o Reagente de Trombina e aqueça-o à temperatura ambiente (18–26°C).
2. Coloque as cuvetes nos suportes posicionados na área de preparação não aquecida.
3. Verta uma bola para dentro de cada cuvete.
4. Pipete 0,1 ml (100 µl) de diluição da amostra para dentro de cada cuvete.
5. Feche a tampa, retire o suporte da área de preparação e rode cuidadosamente 4–5 vezes. Transfira o suporte para dentro da área de incubação aquecida ou para dentro das posições de teste rotativas.
6. Incube durante 1–3 minutos.
7. Coloque o suporte nas posições de teste rotativas. Abra a tampa.
4. Verta 0,05 ml (50 µl) de Reagente de Trombina para dentro de cada cuvete.
9. Registe os resultados do tempo de coagulação em segundos.
10. Extrapole a concentração a partir da curva de calibração.

MÉTODO DO BBL FIBROMETER:.

Curva de calibração e plasma do doente a testar:

1. Reconstitua o Reagente de Trombina e mantenha-o à temperatura ambiente (18–26°C) durante o teste.
2. À cuvete do Fibrometer adicione 0,2 ml (200 µl) da amostra de plasma diluída.
3. Incube durante 1–3 minutos a 37°C. (Nunca mais de 5 minutos.)
4. A seguir à incubação, expila rapidamente 0,1 ml (100 µl) de Reagente de Trombina para dentro da cuvete do Fibrometer ao mesmo tempo que liga o cronómetro.
5. Registe os resultados do tempo de coagulação em segundos.
6. Extrapole a concentração a partir da curva de calibração.

As pipetas têm de ser lavadas e secas entre testes para impedir a contaminação das proteínas plasmáticas activadas. Para que a limpeza seja eficaz, as pipetas do Fibrometer devem ser mergulhadas em água e MUITO bem secas após cada determinação. Não basta enxugar.

CONTROLO DA QUALIDADE

A fiabilidade dos resultados de teste deve ser monitorizada utilizando materiais de controlo normais e anormais dentro de cada ensaio. O TriniCHECK Control 1 ou o TriniCHECK Level 1

e o TriniCHECK Fibrinogen Low Control são adequados a esse fim. O laboratório deve estabelecer um intervalo de controlo para determinar a variação permissível no desempenho do dia a dia para cada nível de controlo. O programa **Trinity Biotech** Reliant C também pode ser utilizado para monitorizar o desempenho do ensaio. Os resultados de controlo que ficam fora dos limites superior e inferior dos intervalos estabelecidos indicam que o ensaio pode estar fora de controlo. A incapacidade de corresponder às especificações de Controlo da Qualidade deve ser investigada e resolvida. Se não for possível resolver os problemas, deverão ser contactados os Serviços Técnicos da **Trinity Biotech**.

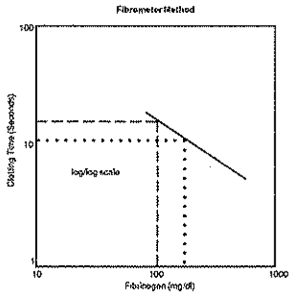
RESULTADOS

Utilize a curva de calibração para ler os valores do teste de Fibrinogénio da seguinte forma: Determine o ponto em que o tempo de coagulação da diluição a 1:10 da diluição do plasma de teste (eixo y) intercepta a curva de calibração. Leia o valor de Fibrinogénio correspondente em mg/dl (eixo x).

Se o tempo de coagulação da diluição a 1:10 do plasma de teste ultrapassar o tempo de coagulação do último ponto de diluição da curva de calibração, efectue uma diluição a 1:5 do plasma de teste e repita o ensaio. A concentração de Fibrinogénio resultante em mg/dl deve ser multiplicada pelo factor de diluição de 0,5, para obter a concentração de Fibrinogénio correcta em mg/dl para a amostra de teste. Se o tempo de coagulação da diluição a 1:10 do plasma de teste for inferior ao tempo de coagulação do último ponto de diluição da curva de calibração, efectue uma diluição a 1:20 do plasma de teste e repita o ensaio. A concentração de Fibrinogénio resultante em mg/dl deve ser multiplicada pelo factor de diluição de 2, para obter a concentração de Fibrinogénio correcta em mg/dl para a amostra de teste. Se forem testadas outras diluições, o valor obtido deve ser multiplicado pelo factor de diluição apropriado.

É apresentada na Figura 1 uma curva padrão típica obtida utilizando o Fibrometer. Uma diluição a 1:10 do plasma de teste produziu um tempo de coagulação de 12,2 segundos. A concentração de Fibrinogénio lida a partir da curva de calibração é 200 mg/dl (2,0 g/L), conforme se pode ver pelas linhas pontilhadas. Uma diluição a 1:20 do mesmo plasma produz um tempo de coagulação de 21,0 segundos (Figura 1). A concentração de Fibrinogénio lida a partir da curva é 100 mg/dl (1,0 g/L). Este valor é multiplicado pelo factor de diluição de 2, produzindo um valor de Fibrinogénio de 200 mg/dl (2,0 g/L).

Figura 1



NOTA: A curva de calibração típica representada acima não pode ser utilizada para derivar resultados laboratoriais. Cada laboratório tem de preparar uma curva de calibração.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

A diluição de teste mais baixa recomendada é 1:3. O plasma não diluído não pode ser utilizado porque as substâncias interferentes e os inibidores podem afectar a exactidão dos resultados.

O tempo de medição mais curto para a instrumentação KC 1/KC 4 é de, aproximadamente, 4,5 segundos. Quando se obtém um tempo de coagulação de 4,5 segundos, a amostra deve ser reanalisada com uma diluição diferente.

Os resultados não são afectados de forma significativa pelos níveis terapêuticos normais de heparina (até 3,0 USP U/ml), que são os característicos dos pacientes que não estão a tomar anticoagulantes. Foram reportados casos em que os produtos de degradação da fibrina (PDF) podem inibir a acção da trombina na polimerização do fibrinogénio e da fibrina. Os PDF têm um efeito mínimo no doseamento do fibrinogénio em níveis de fibrinogénio normais. Em concentrações de fibrinogénio inferiores a 150 mg/dl (1,5 g/L), os PDF em concentrações superiores a 100 g/ml podem inibir cada vez mais o ensaio de Clauss.[1]

RESULTADOS ESPERADOS

Normalmente, considera-se que o intervalo normal dos níveis de fibrinogénio no plasma humano está compreendido entre 175 e 400mg/dl (1,75–4,00 g/L).[12] No entanto, devido às variações de procedimento existentes entre laboratórios, cada laboratório deve estabelecer o seu próprio intervalo médio e normal (média ± 2 DP).

Foram associadas aos níveis baixos de fibrinogénio as seguintes condições:
doença hepática, traumática e infecciosa, coagulopatia consumptiva aguda, fibrinólise, embolia pulmonar aguda, disfibrinogenemia hereditária, algumas mordeduras de cobra venenosa.

Os valores de fibrinogénio aumentam em condições que envolvem necrose tissular extensa, como acontece nas doenças malignas activas ou durante uma quimioterapia agressiva e com respostas inflamatórias graves. Podem estar presentes níveis de fibrinogénio elevados em doenças renais quando outros factores de coagulação estiverem gravemente diminuídos.[13]

COMPORTAMENTO FUNCIONAL

LIMITES DE MEDIÇÃO:

As concentrações de fibrinogénio que estiverem dentro dos valores de 100–500 mg/dl (1,0–5,0 g/l) podem ser detectadas directamente por meio deste procedimento. Se as amostras de plasma forem rediluídas, é possível detectar concentrações de fibrinogénio entre 50 e 1000 mg/dl (0,5–10,0 g/L).

ESTUDOS DE CORRELAÇÃO:

Descobriu-se que o procedimento descrito se correlacionava bem com outro produto à venda no mercado, baseado no método de Clauss. Foram analisadas cento e duas amostras com concentrações de fibrinogénio compreendidas entre 95 e 764 mg/dl (0,95–7,64 g/L), tendo para tal sido utilizado o reagente descrito (y) e um reagente estabelecido (x) no Fibrometer. A comparação dos resultados produziu um coeficiente de correlação de 0,96 e uma equação de regressão de y = 0,91x + 28,3.

PRECISÃO:

A precisão foi determinada no Fibrometer de acordo com a publicação da CLSI EP5-T2,[14] utilizando plasma com três níveis de fibrinogénio.

Foram obtidos os seguintes dados (n = 40):

	Nível de fibrinogénio	Baixo	Médio	Alto

UWAGI:
1. Nie używać wody destylowanej, która zawiera środki konserwujące.
2. Jeżeli odczynnik z trombiną zostanie usunięty z oryginalnego opakowania podczas badań lub przechowywania w lodówce, należy umieścić go tylko w pojemniku propylenowym lub ze szkła silikonowanego.

WYMAGANE MATERIAŁY DODATKOWE

Materiały do kontroli
Analizator do koagulacji/koagulometr

DOSTĘPNE MATERIAŁY

TriniCHECK Control I lub TriniCHECK Level I (materiały do kontroli – osocza kontrolne)
TriniCHECK Fibrinogen Low Control (materiały do kontroli – osocze kontrolne)
Analizator do koagulacji/koagulometr

APARATURA

Informacje na temat zastosowań/adaptacji metody dla poszczególnych typów analizatorów są dostępne na życzenie. W tym celu należy skontaktować się ze swoim przedstawicielem regionalnym.

PRZECHOWYWANIE I TRWAŁOŚĆ

Przechowywać odczynniki do oznaczania fibrynogenu w lodówce w temperaturze (2–8°C). Odczynniki są opatrzone etykietami z datami ważności. Rozpuszczony odczynnik **TriniCAL Fibrinogen** zachowuje trwałość przez 24 godziny w temp. 2–8°C. Rozpuszczony odczynnik z trombiną zachowuje trwałość przez 12 dni w temp. 2–8°C lub 3 dni w temp. pokojowej (18–26°C).

POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

Zaleca się, aby pobieranie i przechowywanie próbek było wykonywane zgodnie z wytycznymi zawartymi w dokumencie H21-A5[11] Instytutu Norm Klinicznych i Laboratoryjnych (CLSI). Żadna znana metoda badawcza nie jest w stanie zapewnić pełnej gwarancji, iż dana próbka krwi nie posiada czynników potencjalnie zakaźnych. W związku z tym wszystkie pochodne krwi powinny być uznawane za potencjalnie zakaźne. Krew żylna jest pobierana do pojemnika z 3,2% roztworem cytrynianu sodu w stosunku 9 części krwi na 1 część antykoagulantu (rozcieńczenie 1:10). Jest to podstawowy współczynnik rozcieńczenia. 3,2% roztwór cytrynianu sodu jest zalecany przez CLSI i Światową Organizację Zdrowia (WHO). Używając dostępnych probówek próżniowych, należy dokonać pełnego pobrania materiału. Ucisk ramienia lub użycie stazy podczas pobierania krwi nie są zalecane. Nie powinno się pobierać krwi przez korek heparynowy lub inny heparynizowany cewnik. Obecność skrzepu w probówce jest podstawą do jej odrzucenia. Dobrze wymieszać zawartość probówki po pobraniu, delikatnie ją odwracając. Aby otrzymać roztwór osocza, należy wirować próbkę przy 1 500 x g przez minimum 15 minut.

Przenieść osocze do plastikowej probówki, chyba że zostanie natychmiast poddane dalszym testom. Próbki osocza powinny być przechowywane w lodówce w temp. (2–8°C) lub w temp. pokojowej (18–25°C), a oznaczone w ciągu maksimum 4 godzin. Jeżeli nie można przeprowadzić badań w ciągu 4 godzin, należy zamrozić próbkę w temp. –70°C, w której może być przechowywana do 6 miesięcy. Zamrożone próbki osocza powinny być szybko rozmrażane w temp. 37°C, jednocześnie delikatnie obracane i natychmiast poddane badaniom. Jeżeli nie można od razu przeprowadzić badań, to próbki mogą być przechowywane w temp. 4°C maksymalnie przez 2 godziny. Wartość APTT może być nieprawidłowa w niektórych zamrożonych próbkach.

SPOSÓB POSTĘPOWANIA

BADANIE MATERIAŁU PACJENTA:

Roztwory osocza pacjentów są przygotowywane poprzez rozcieńczenie osocza w stosunku 1:10 z buforem imidazolowym w plastikowych probówkach. Przechowywać rozcieńczone roztwory w temp. 2–8°C.

ŚRODKI BEZPIECZENSTWA I OSTROŻNOŚCI

Podczas pracy z odczynnikami laboratoryjnymi należy przestrzegać ogólnych środków ostrożności. Przy wyrzucaniu odpadów należy przestrzegać odpowiednich przepisów lokalnych i krajowych.

Odczynnik **TriniCAL Fibrinogen** zawiera MATERIAŁ POTENCJALNIE ZAKAŹNY. Substancje bazowe, z których wykonano odczynnik, zostały przetestowane za pomocą uznanych metod, na obecność antygenu HBs i przeciwciał przeciwko HCV, HIV-1 i HIV-2 (wyniki były ujemne). Niemniej jednak w związku z tym, że żadna metoda badawcza nie daje pełnej gwarancji na brak czynników zakaźnych w materiale, należy zastosować takie środki ostrożności, jak podczas pracy z potencjalnie zakaźną substancją.

Odczynnik z trombiną jest SZKODLIWY w kontakcie ze skórą i kiedy zostanie połknięty. Drażniący dla oczu, układu oddechowego i skóry. W przypadku kontaktu z oczami natychmiast przemyć je dużą ilością wody i zasięgnąć opinii lekarza. Zakładać odpowiednie ubranie ochronne podczas pracy z odczynnikami.

Brak próżni przy pierwszym otwarciu fiolek z odczynnikami **TriniCAL Fibrinogen** czy Thrombin Reagent (odczynnik z trombiną) lub niemoNność uzyskania powtarzanych wyników są potencjalnymi oznakami uszkodzenia produktu.

Bufor imidazolowy zawiera azydek sodu, który jest SZKODLIWY w kontakcie ze skórą i kiedy zostanie połknięty. Przy kontakcie z kwasami wytwarza się bardzo toksyczny gaz. Przechowywać go w szczelnie zamkniętym pojemniku. Zakładać odpowiednie ubranie i rękawiczki ochronne. MATERIAŁ POTENCJALNIE ZAKAŹNY. Azydek sodu może wchodzić w reakcję z ołowiem i miedzią, tworząc wysoce wybuchowe związki azydków metali. Unikać gromadzenia azydków. Wyrzucić pojemnik z buforem imidazolowym, jeśli zostanie w nim stwierdzony wzrost mikroorganizmów.

METODA WYKONANIA TESTU

Zestaw odczynnika z fibrynogenem może być używany zarówno w technikach mechanicznych, jak i fotooptycznych. W celu uzyskania specyficznych informacji na temat metodyki i ograniczeń pomiarowych, należy skorzystać z instrukcji obsługi lub opisu aplikacyjnego dla urządzenia.

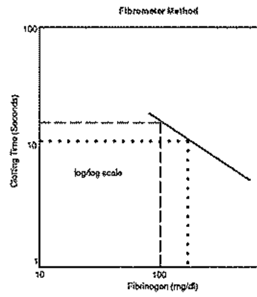
Należy wykonywać wszystkie testy dwukrotnie, dbając o powtarzalność parametrów czasu, temperatury, inkubacji i zastosowanej metodyki (dla większej dokładności).

W przypadku używania urządzeń KC 1™, KC 4™ czy Fibrometer®, należy przygotować rozcieńczenia odczynnika TriniCAL Fibrinogen z buforem imidazolowym; przechowywać je w lodówce w temp. (2–8°C). Używać do tego celu plastikowych probówek. Delikatnie wymieszać zawartość probówek.

Przykłady rozcieńczeń znajdują się poniżej:

Rozcieńczenie	TriniCAL Fibrinogen (ml)	Bufor imidazolowy (ml)	Współczynnik rozcieńczenia
1:5	0,5	2,0	2

Rysunek 1



UWAGA: Typowa krzywa kalibracji, pokazana powyżej, nie może być używana w celu otrzymywania wyników laboratoryjnych. Każde laboratorium musi przygotować własną krzywą kalibracji.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Najmniejsze zalecane rozcieńczenie wynosi 1:3. Nie można użyć nierozcieńczonego osocza, ponieważ znajdujące się w nim substancje zakłócające i inhibitory mogą wpłynąć na dokładność wyników.

Najkrótszy czas pomiaru dla przyrządów KC 1/KC 4 wynosi około 4,5 sekundy. Kiedy zostanie osiągnięty czas krzepnięcia rzędu 4,5 sekundy, należy powtórzyć badanie przy innym rozcieńczeniu próbki.

Dokładność wyników nie jest znacząco zakłócana przez terapeutyczne poziomy heparyny (do 3,0 USP U/ml), co zostało ustalone u pacjentów przyjmujących leki antykoagulacyjne. Odnotowano, iż produkty degradacji fibryny (FDP) mogą hamować działanie trombiny na fibrynogen i polimeryzację fibryny. Produkty degradacji fibryny (FDP) wywierają minimalny wpływ na określanie stężenia fibrynogenu przy jego normalnych poziomach. Gdy stężenie fibrynogenu jest niższe niż 150 mg/dl (1,5 g/L), produkty degradacji fibryny (FDP), przy stężeniu własnym wyższym niż 100 µg/ml, mogą znacznie zahamować badanie metodą Claussa.[1]

OCZEKIWANE WYNIKI

Prawidłowy zakres wartości fibrynogenu w osoczu ludzkim wynosi 175–400 mg/dl (1,75–4,00 g/L).[12] Niemniej jednak w związku z różnicami w sposobach przeprowadzania analiz pomiędzy laboratoriami, każde z nich powinno ustalić własny średni i prawidłowy zakres wartości (średnia ± 2 SD* - przyp. tłum. – odchylenie standardowe).

Poniższe stany są związane ze zmniejszonym stężeniem fibrynogenu:
choroby wątroby, pourazowa i infekcyjna ostra koagulopatia ze zużycia, fibrynoliza, ostra zatorowość płucna, dysfibrynogenemia dziedziczna, ukąszenia niektórych jadowitych węży. Stężenie fibrynogenu jest zwiększone w: znacznej martwicy tkanek, aktywnym procesie nowotworowym czy podczas agresywnej chemioterapii, a także w odpowiedzi na ciężkie zakażenia. Zwiększone poziomy fibrynogenu mogą współistnieć z chorobami nerek, kiedy poziomy innych czynników krzepnięcia są znacznie obniżone.[13]

CHARAKTERYSTYKA DZIAŁANIA

OGRANICZENIA POMIARU:

Za pomocą tego badania można bezpośrednio oznaczyć stężenie fibrynogenu rzędu 100–500 mg/dl (1,0–5,0 g/L). Po ponownym rozcieńczeniu próbki osocza można oznaczyć stężenia fibrynogenu rzędu 50–1000 mg/dl (0,5–10,0 g/L).

BADANIA KORELACYJNE:

Okazało się, iż opisywana metoda pomiarowa jest dobrze skorelowana z innym dostępnym na rynku produktem, którego działanie oparte jest o metodę Claussa. Przy pomocy opisywanego (y), jak i porównawczego odczynnika (x), oznaczono stężenia fibrynogenu w 102 próbkach (zakres wyników 95 do 764 mg/dl – 0,95–7,64 g/L) w urządzeniu Fibrometer. Porównanie wyników dało wartość wskaźnika korelacji rzędu 0,96, a równanie regresji y = 0,91x + 28,3.

DOKŁADNOŚĆ:

Dokładność badania została określona za pomocą urządzenia Fibrometer, zgodnie z wytycznymi zawartymi w publikacji EP5-T2[14] Instytutu Norm i Klinicznych i Laboratoryjnych (CLSI) przy użyciu próbek osocza zawierających trzy różne stężenia fibrynogenu.

Otrzymano poniższe wyniki (n = 40):

	Poziom fibrynogenu	Niski	Średni	Wysoki
	Średnia, mg/dl	166,4	267,2	497,1
Dla serii	SD	6,8	10,0	22,5
	CV(%)	4,1	3,7	4,5
Całkowity	SD	6,7	10,7	29,8
	CV(%)	4,0	4,0	6,0

REFERENCES / RÉFÉRENCES / LITERATUR / REFERENCIAS / RIFERIMENTI / ΑΝΑΦΟΡΕΣ / REFERÊNCIAS / LITERATURA

1. Day HJ, Arkin CF, Bovill EG, Bowie EJW, Carroll JJ, Joist JH, Lenahan JG, Marlar RA, Triplett DA: *Procedure for the Determination of Fibrinogen in Plasma; Approved Guideline - Second Edition*. CLSI document H30-A2 Vol. 21. No.18, 2001.
2. Tan V, Doyle CJ, Budzynski: *Comparison of the Kinetic Fibrinogen Assay With the von Clauss Method and the Clot Recovery Method in Plasma of Patients With Conditions Affecting Fibrinogen Coagulability*. Am. J. Clin. Pathol. 104 455–462, 1995.

GUIDE TO SYMBOLS / GUIDE DES SYMBOLES / SCHLÜSSEL ZU DEN SYMBOLEN / GUIA DE SIMBOLOS / GUIDA AI SIMBOLI / ΟΔΗΓΟΣ ΓΙΑ ΤΑ ΣΥΜΒΟΛΑ / GUIA PARA OS SÍMBOLOS / LEGENDA SYMBOLI

Consult Instructions for Use
Consulter les instructions d'utilisation
Gebrauchsanweisung beachten
Consulte las instrucciones de uso
Consultare le istruzioni per l'uso
Se brugsanvisning
Συκβουλευηείηε τις οδηγίες χρήσης
Consulte as instruções de utilização
Se handhavandebeskrivningen
Sprawdź w instrukcji użycia
Consultar as Instruções de Utilização

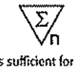
Temperature limitation
Limites de température
Temperaturbegrenzung
Límite de temperatura
Limite de temperatura
Temperaturbegrænsning
Περιορισμόι θερμοκρασίας
Limites de temperatura
Temperaturbegränsning
Przechowywać w określonej temperaturze
Limites de Temperatura

IVD

For *in vitro* Diagnostic Use
Usage diagnostique *in vitro*
In-vitro-Diagnostika
Para diagnóstico *in vitro*
Per uso diagnostico *in vitro*
Til *in vitro* diagnostic
Για *in vitro* διαγνωστική χρήση
Para uso em diagnóstico *in vitro*
För användning vid *in vitro* diagnostik
Do diagnostyki *in vitro*
Para uso diagnóstico *in vitro*

LOT

Batch code
Code du lot
Chargenbezeichnung
Codigo de lote
Codice del lotto
Lotnummer
Αριθμός Παρτίδας
Código do lote
Lot nummer
Kod partii
Código do Lote.



Contains sufficient for <n> tests
Contenu suffisant pour "n" tests
Inhalt ausreischende für <n> Prüfungen
Contenido para <n> ensayos
Contenuto sufficiente per "n" test
Indeholder tilsttrækkeligt til "n" test
Περιεχόμενο επαρκές για <ν> εξετάσεις
Conteúdo suficiente para "n" ensaios
Räcker till "n" antal tester
Wystarczający do wykonania <n> testów
Conteúdo Suficiente para <n> Testes

Manufacturer
Fabricant
Hersteller
Fabricante
Fabbricante
Producent
Κατασκευαστής
Fabricante
Tillverkare
Producent
Fabricante

Use by
Date limite d'utilisation
Verwendbar bis
Fecha de caducidad
Utilizzare entro
Holdbar til
Ημερομηνία λήξης
Prazo de validade
Använd före
Data ważności
Uso por

0.00% NaN_3

Sodium Azide
Azide de sodium
Natriumazid
Azida sódica
Sodio azide
Natriumazid
Αζίδιο του νατρίου
Azida sódica
Natriumazid
Azydek sodu
Azida de sódio

Fragile, handle with care
Fragile, manipuler avec précautions
Zerbrechlich, mit Sorgfalt behandeln
Frágil. Manipular con cuidado
Fragile, maneggiare con cura
Forsigtigt kan gå i stykker
Εύθραυστο, να χρησιμοποιείται με προσοχή
Frágil, manusear com cuidado
Ömtåligt, hanteras varsamt
Ostrożnie, kruche
Frágil, manipular com cuidado

Add
Ajouter
Hinzuf
Añadir
Aggiungere
Tilsæt
Προσθ
Adicionar
Tillsätt
Dodać
Adicionar

PRECISÃO:
A precisão foi determinada no Fibrometer de acordo com a publicação da CLSI EP5-T2,[14] utilizando plasma com três níveis de fibrinogénio.

Foram obtidos os seguintes dados (n = 40):

	Nível de fibrinogénio	Baixo	Médio	Alto
	Média, mg/dl	166,4	267,2	497,1
Intra-Ensaio	DP	6,8	10,0	22,5
	CV(%)	4,1	3,7	4,5
Total	DP	6,7	10,7	29,8
	CV(%)	4,0	4,0	6,0

Trinity Biotech

TriniCLOT™ Fibrinogen Kit

REF T1301

TriniCLOT™ Fibrinogen Kit

REF T1302 **10 x 6 ml**

TriniCAL™ Fibrinogen

REF T5104 **10 x 1 ml**

POLSKI

PRZEZNACZENIE

Zestaw **TriniCLOT Fibrinogen** kit służy do ilościowej oceny stężenia fibrynogenu w osoczu krwi.

OPIS I ZASADY DZIALANIA

Fibrynogen jest białkiem osoczowym – prekursorem fibryny, która po usieciowaniu staje się głównym składnikiem skrzepu fibrynowego. Trombina rozszczepia fibrynogen na monomery fibryny. Monomery fibryny w wyniku agregacji tworzą nierozpuszczalne polimery. W niektórych schorzeniach może dojść do niedoboru fibrynogenu, są to: afibrynogenemia, hipofibrynogenemia i kilka przypadków dysfibrynogenemii. Jego ilość może się obniżyć również w niektórych stanach patologicznych, jak w: rozsianym wykrzepianiu wewnątrznaczyniowym (DIVC), fibrynolizie układowej, zapaleniu trzustki i ciężkiej niewydolności wątroby. Fibrynogen jest białkiem ostrej fazy, którego stężenie wzrasta pod wpływem wielu fizjologicznych bodźców. Jego ilość może się zwiększyć w odpowiedzi na stany zapalne wywołane infekcją, podczas ciąży i po urazie. Poziom fibrynogenu jest również podwyższony u palaczy.[1,2] Wysokie stężenia fibrynogenu w osoczu były łączone ze stanami przedzakrzepowymi. Jego poziomy zostały również dodatnio skorelowane z rozwojem miażdżycy uogólnionej i wystąpieniem zawału serca oraz udaru.[3,4] Ze względu na wzrost znaczenia oceny poziomu fibrynogenu potrzebna jest wiarygodna, czuła metoda jego oznaczania.

Większość metod oznaczania stężenia fibrynogenu opiera się na założeniu dotyczącym faktu, iż trombina ilościowo przekształca fibrynogen w fibrynę. Ocena stężenia na podstawie wagowej zawartości białka w utworzonym skrzepie może być przyczyną powstania dużych błędów pomiaru z powodu dodatkowej obecności inhibitorów procesu krzepnięcia, które w małym lub dużym stopniu mogą hamować powstawanie skrzepu. Plazmina może również spowodować dość istotną lizę uformowanego skrzepu, zanim zostanie ocenione ostateczne stężenie fibrynogenu. Zostały opisane metody zastępcze oparte na wytrącaniu białka z roztworu za pomocą siarczanu amonu,[5,6] ale dowiedziono, że nie są one skorelowane z czasem trombinowym, kiedy stężenie fibrynogenu jest poniżej 100 mg/dl (1,0 g/L).[7]

Ocena aktywności biologicznej (na przykład: krzepliwości) jest bardziej użyteczna niż pomiar ilości krążącego fibrynogenu. Metoda Claussa,[8] polegająca na pomiarze wskaźnika konwersji fibrynogenu do fibryny w obecności nadmiaru trombiny, okazała się być metodą szybką, czułą i precyzyjną.[9,10] Procedura pomiarowa opisana poniżej jest oparta na metodzie Claussa.

Kiedy w rozcieńczonym osoczu znajduje się nadmiar trombiny, poziom fibrynogenu jest odwrotnie proporcjonalny do czasu trombinowego, z krzywoliniową charakterystyką w podwójnie logarytmicznym układzie współrzędnych. Krzywa kalibracji przygotowana na podstawie wzorca fibrynogenu jest używana do oznaczenia stężenia tego białka w badanej próbce.

ODCZYNNIK

Przeznaczony do stosowania w diagnostyce in vitro .

OPIS ODCZYNNIKA

TriniCAL Fibrinogen, 2 x 1 ml, catalogue no. T5104A
Liofilizowane osocze ludzkie z cytrynianem sodu, zawierające substancję buforującą i konserwant. Wartość fibrynogenu, umieszczona na etykiecie, jest oznaczana za pomocą metody Claussa i jest zgodna z wytycznymi Komisji Standaryzacyjnej ISTH dla wzorca wtórnego.
TriniCLOT Fibrinogen, reagent, 3 x 6 ml, catalogue no. T1302A
Preparat liofilizowany zawierający trombinę wołową, około 75 NIH U/ml, bufor, stabilizatory i konserwanty.
TriniCLOT Imidazole Buffer, 2 x 20 ml catalogue no. T1901A
Imidazol, 30 mmol/L, i chlorek sodu, 125 mmol/L. 0,1% azydek sodu – dodany jako konserwant. pH 7,35.

PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKA
Rozpuścić **TriniCAL Fibrinogen** w 1,0 ml destylowanej lub demineralizowanej wody. Zamknąć fiolkę zatyczką i pozostawić ją na stojaku do całkowitego rozpuszczenia substancji. Aby wymieszać zawartość, delikatnie odwrócić fiolkę. NIE WSTRZĄSAĆ.

Rozpuścić odczynnik z trombiną w 6,0 ml destylowanej lub demineralizowanej wody. Zamknąć fiolkę zatyczką i pozostawić ją na stojaku do całkowitego rozpuszczenia substancji. Odwracać fiolkę od czasu do czasu. NIE WSTRZĄSAĆ.

Bufor imidazolowy jest substancją płynną i nie wymaga wcześniejszego przygotowania.

zawartość probówek.

Przykłady rozcieńczeń znajdują się poniżej:

Rozcieńczenie	TriniCAL Fibrinogen (ml)	Bufor imidazolowy (ml)	Współczynnik rozcieńczenia
1:5	0,5	2,0	2
1:10	0,5 z rozcieńczenia 1:5	0,5	1
1:15	0,4 z rozcieńczenia 1:5	0,8	0,66
1:20	0,2 z rozcieńczenia 1:5	0,9	0,5
1:25	0,2 z rozcieńczenia 1:5	0,8	0,4
1:30	0,2 z rozcieńczenia 1:5	1,0	0,33

Wynik analizy oznaczony na fiolce został uzyskany przy rozcieńczeniu 1:10 odczynnika **TriniCAL Fibrinogen**; pozostałe rozcieńczenia są porównywane z tym rozcieńczeniem. Współczynnik rozcieńczenia oznacza związek pomiędzy rozcieńczeniem 1:10 a innymi.

Wartości wszystkich innych roztworów obliczone są w następujący sposób:
wartość **TriniCAL Fibrinogen** uzyskana podczas analizy (mg/dl) x współczynnik rozcieńczenia = stężenie fibrynogenu, mg/dl.

Krzywa kalibracji fibrynogenu jest nanoszona na dostarczony papier graficzny lub na skalę podwójnie logarytmiczną – stężenie fibrynogenu (mg/dl) na osi x i czas krzepnięcia (sekundy) na osi y. Wykres funkcji łączącej punkty ma z reguły charakter krzywoliniowy.

METODA KC 4:
Krzywa kalibracji i analiza osocza pacjenta:
1. Rozpuścić odczynnik z trombiną (Thrombin Reagent) i ogrzać do temp. pokojowej (18-26°C).
2. Kuwety umieścić w statywie, w nie ogrzewanym obszarze przygotowawczym.
3. Do każdej kuwety dodać jedną kulkę.
4. Następnie za pomocą pipety dodać 0,1 ml (100 µl) rozcieńczonej próbki do każdej kuwety.
5. Zamknąć pokrywkę, usunąć statyw z obszaru przygotowawczego i delikatnie obrócić 4–5 razy. Przenieść statyw do inkubatora lub na pozycje do testów obrotowych.
6. Inkubować przez 1–3 minut.
7. Umieścić statyw w pozycjach do testów obrotowych. Otworzyć pokrywkę.
8. Zapipetować 0,05 ml (50 µl) odczynnika trombinowego do każdej kuwety.
9. Zanotować wyniki czasu krzepnięcia w sekundach.
10. Oszacować stężenie na podstawie krzywej kalibracji.

METODA BBL FIBROMETER:
Krzywa kalibracji i analiza osocza pacjenta:
1. Rozpuścić odczynnik z trombiną (Thrombin Reagent) i ogrzać do temp. pokojowej (18–26°C).
2. Do naczynka urządzenia Fibrometer dodać 0,2 ml (200 µl) próbki rozcieńczonego osocza.
3. Inkubować przez 1–3 minut w temp. 37°C. (Nie dłużej niż 5 minut.)
4. Następnie szybko dodać 0,1 ml (100 µl) odczynnika trombinowego (Thrombin Reagent) do naczynka, jednocześnie włączając stoper.
5. Zanotować wyniki czasu krzepnięcia w sekundach.
6. Oszacować stężenie na podstawie krzywej kalibracji.

Probówki muszą być wymyte i wytarte do sucha pomiędzy kolejnym analizami, aby zapobiec przeniesieniu aktywnych białek osocza. Aby mycie było skuteczne, probówki Fibrometer powinny być zanurzone w wodzie i DOKŁADNIE wytarte po każdym oznaczeniu. Osuszenie na bibule nie wystarczy.

KONTROLA JAKOŚCI
Przy każdej serii należy monitorować wiarygodność przeprowadzanych analiz, badając materiał kontrolny, normalny i patologiczny. Można stosować osocza kontrolne TriniCHECK Control 1 lub TriniCHECK Level 1 i TriniCHECK Fibrinogen Low Control. Laboratorium powinno określić dopuszczalny zakres zmienności dzień do dnia dla każdego poziomu kontroli. Program Reliant C firmy **Trinity Biotech** również może być wykorzystany do monitorowania jakości oznaczeń.. Wyniki kontroli poza dolną lub górną granicą ustalonego zakresu, świadczą, iż wyniki oznaczeń mogą być błędne. Niemożność spełnienia wytycznych kontroli jakości powinna zostać zbadana, a ewentualna przyczyna usunięta. Jeżeli nie można rozwiązać problemu we własnym zakresie, należy skontaktować się z Serwisem technicznym firmy **Trinity Biotech**.

WYNIKI

Aby odczytać wyniki analizy fibrynogenu, należy użyć krzywej kalibracji w następujący sposób: Określić punkt, w którym wartość czasu krzepnięcia dla rozcieńczenia 1:10 badanego osocza (oś y) przecina się z krzywą kalibracji. Odczytać odpowiadającą temu przecięciu wartość stężenia fibrynogenu mg/dl (oś x).

Jeżeli czas krzepnięcia przy rozcieńczeniu 1:10 badanego osocza przewyższa czas krzepnięcia ostatniego punktu rozcieńczenia na krzywej kalibracji, należy wykonać rozcieńczenie 1:5 badanego osocza i powtórzyć badanie. Aby otrzymać prawidłową wartość stężenia fibrynogenu w mg/dl w badanej próbce, otrzymana wartość stężenia fibrynogenu w mg/dl powinna być pomnożona przez wskaźnik rozcieńczenia 0,5. Jeżeli czas krzepnięcia przy rozcieńczeniu 1:10 badanego osocza jest krótszy od czasu krzepnięcia ostatniego punktu rozcieńczenia na krzywej kalibracji, należy wykonać rozcieńczenie 1:20 badanego osocza i powtórzyć badanie. Aby otrzymać prawidłową wartość stężenia fibrynogenu w mg/dl w badanej próbce, otrzymana wartość stężenia fibrynogenu w mg/dl powinna być pomnożona przez wskaźnik rozcieńczenia 2. Jeśli badane są inne rozcieńczenia próbki, to wartość stężenia fibrynogenu należy pomnożyć przez odpowiedni wskaźnik rozcieńczenia.

Typowa krzywa kalibracji używana w urządzeniu Fibrometer jest przedstawiona na rysunku 1. Przy rozcieńczeniu 1:10 badanego osocza czas krzepnięcia wynosi 12,2 sekundy. Natomiast stężenie fibrynogenu, odczytane z krzywej kalibracji, wynosi 200 mg/dl (2,0 g/L), jak to pokazano na wykresie za pomocą kropkowanych linii. Przy rozcieńczeniu 1:20 tego samego osocza czas krzepnięcia wynosi 21,0 sekund (rysunek 1). Stężenie fibrynogenu, odczytane z krzywej kalibracji, wynosi 100 mg/dl (1,0 g/L). Ta wartość jest mnożona przez wskaźnik rozcieńczenia 2, co powoduje uzyskanie wartości stężenia fibrynogenu na poziomie 200 mg/dl (2,0 g/L).

1. Day HJ, Arkin CF, Bovill EG, Bowie EJW, Carroll JJ, Joist JH, Lenahan JG, Marlar RA, Triplett DA: *Procedure for the Determination of Fibrinogen in Plasma; Approved Guideline - Second Edition*. CLSI document H30-A2 Vol. 21. No.18, 2001.
2. Tan V, Doyle CJ, Budzynski: *Comparison of the Kinetic Fibrinogen Assay With the von Clauss Method and the Clot Recovery Method in Plasma of Patients With Conditions Affecting Fibrinogen Coagulability*. Am. J. Clin. Pathol. 104:455–462, 1995
3. Kannel WB, Wolf PA, Castelli WP, D'Agostino RB. *Fibrinogen and risk of cardiovascular disease: The Framingham Study*. JAMA 258:1183–1186, 1987
4. Meade TW, Brozovic M, Chakrabarti RR, Haines AP, Imeson JD, Mellows S, Miller GJ, North WRS, Stirling Y, Thrompson SG: *Haemostatic Function and Ischaemic Heart Disease: Principal Results of the Northwick Park Heart Study*. Lancet 2:533–537, 1987
5. Doolittle RF: *Fibrinogen and Fibrin, In Haemostasis and Thrombosis*. AL Bloom, DP Thomas, Editors, Churchill Livingstone, London 1981, pp 163–187
6. Parfentjev IA, Johnson ML, Cliffton EE: *The determination of plasma fibrinogen by turbidity with ammonium sulphate*. Arch Biochem Biophys 46:470, 1953
7. Exner T, Burridge J, Power P, and Rickard K: *An evaluation of currently available methods for plasma fibrinogen*. Am J Clin Pathol 71: 521, 1979
8. Clauss, A: *Gerinungs physiologische schnell Methods zur bestimmung des Fibrinogens*. Acta Haematol 17:237, 1957
9. Koepke JA, Gilmer PH, Filip DJ et al: *Studies of fibrinogen measurement in the CAP survey program*. Am J Clin Pathol 63:984, 1975
10. Bovill EG, McDonagh J, Triplett DA, Arkin CF, Brand JT, Hayes TE, Kaczmarek E, Long T, Rock WA: *Performance Characteristics of Fibrinogen Assays; Results of the College of American Pathologists Proficiency Testing Program 1988–1991*. Arch. Pathol. Lab. Med. 117:58–66, 1993
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline - Fifth Edition*. CLSI document H21-A5 Vol. 28, No. 5, 2008.
12. Hathaway WE and Goodnight SH: *Disorders of Hemostasis and Thrombosis; A Clinical Guide*. McGraw-Hill, Inc. New York. 1993, pp 47–48
13. Brozovic M: *Acquired Disorders of Blood Coagulation, In haemostasis and Thrombosis*. AL Bloom, DP Thomas, Editors, Churchill Livingstone, London. 1981, pp 411–426
14. *User evaluation of precision performance of clinical chemistry devices-Second Edition* Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Document EP5-T2, 1992

ORDERING INFORMATION / INFORMATIONS GÉNÉRALES / BESTELLINFORMATIONEN / INFORMACIÓN SOBRE EL PEDIDO / INFORMAZIONI PER GLI ORDINI / / ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΑΣ /INFORMAÇÃO DE ENCOMENDA / INFORMACJA DOTYCZĄCA ZAMÓWIENIA

KIT		TriniCLOT Fibrinogen kit
Catalogue No.		T1301
Kit Content	**Item**	**Quantity**
	TriniCLOT Fibrinogen 6ml	3 x 6 ml
	TriniCAL Fibrinogen	2 x 1 ml
	TriniCLOT Imidazole Buffer	2 x 20 ml

INDIVIDUAL REAGENTS

Catalogue No.	Item	Quantity
T1302	TriniCLOT Fibrinogen 6ml	10 x 6 ml
T5104	TriniCAL Fibrinogen	10 x 1 ml
T1901	TriniCLOT Imidazole Buffer	6 x 20 ml
I2900	Imidazole Buffer	6 x 20 ml

OPTIONAL REAGENTS

ADDITIONAL PRODUCTS AVAILABLE

Catalogue No.	Item	Quantity
T4111	TriniCHECK Level 1 (un-assayed)	10 x 1 ml
T4101	TriniCHECK Control 1 (assayed)	10 x 1 ml
T4105	TriniCHECK Fibrinogen Low Control	10 x 1 ml

BBL Fibrometer is a registered trademark of Becton Dickinson and Company, Rutherford, NJ.

Protect from light
Conserver à l'abri de la lumière
Lichtgeschützt lagern
Conservar protegido de la luz
Conservare al riparo della luce
Beskyttes mod lys
Προστατέψτε από το φως
Conservar ao abrigo da luz
Skyddas mot ljus
Chronić przed światłem
Manter ao abrigo da luz

Biological Risk
Risque biologique
Biogefährdung
Riesgo biológico
Rischio biologico
Biologisk risiko
Βιολογικός κίνδυνος
Risco Biológico
Risco Biológico
Zagrożenie Biologiczne
Biologisk risk

Caution, consult accompanying documents
Attention, consulter la notice d'instructions
Achtung, Begleitdokumente beachten
Atención: consultar instrucciones de uso
Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso
Forsigtig se brugsanvisning
Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα
Atenção, consulte a documentação incluida
Försiktighet, se handhavandebeskrivningen
Uwaga! Przed użyciem zapoznaj się z treścią załączonej ulotki
Cuidado, consulte a documentação que acompanha o equipamento

REF
Catalog number
Référence du catalogue
Bestellnummer
Número de catálogo
Numero di catalogo
Katalognummer
Αριθμός καταλόγου
Referência de catálogo
Katalognummer
Numer katalogowy
Número do catálogo

Xn
Harmful
Nocif
Gesundheitsschädlich
Nocivo
Nocivo
Sundhedsskadelig
Επιβλαβές
Nocivo
Hälsoskadlig
Szkodliwy
Nocivo

Xi
Irritant
Irritant
Reizend
Irritante
Irritante
Lokalirriterende
Ερεθιστικό
Irritante
Irriterande
Drażniący
Irritante

Toxic
Toxique
Giftig
Tóxico
Tossico
Giftig
τοξικός
Tóxico
Giftig
Toksyczny
Tóxico

Corrosive
Corrosif
Ätzend
Corrosivo
Corrosivo
Aetsende
Διαβρωτικό
Corrosivo
Frätande
Żrący
Corrosivo

Trinity Biotech Plc
Bray, Co. Wicklow, Ireland
Tel. 353 1 2769800
Fax 353 1 2769888
www.trinitybiotech.com

CE

USA ENQUIRIES:
Trinity Biotech USA
400 Connell Drive, Suite 7100,
Berkeley Heights, New Jersey,
NJ 07922, USA
Tel. 1800 325 3424
Fax 908 898 1539

046-283
06/08